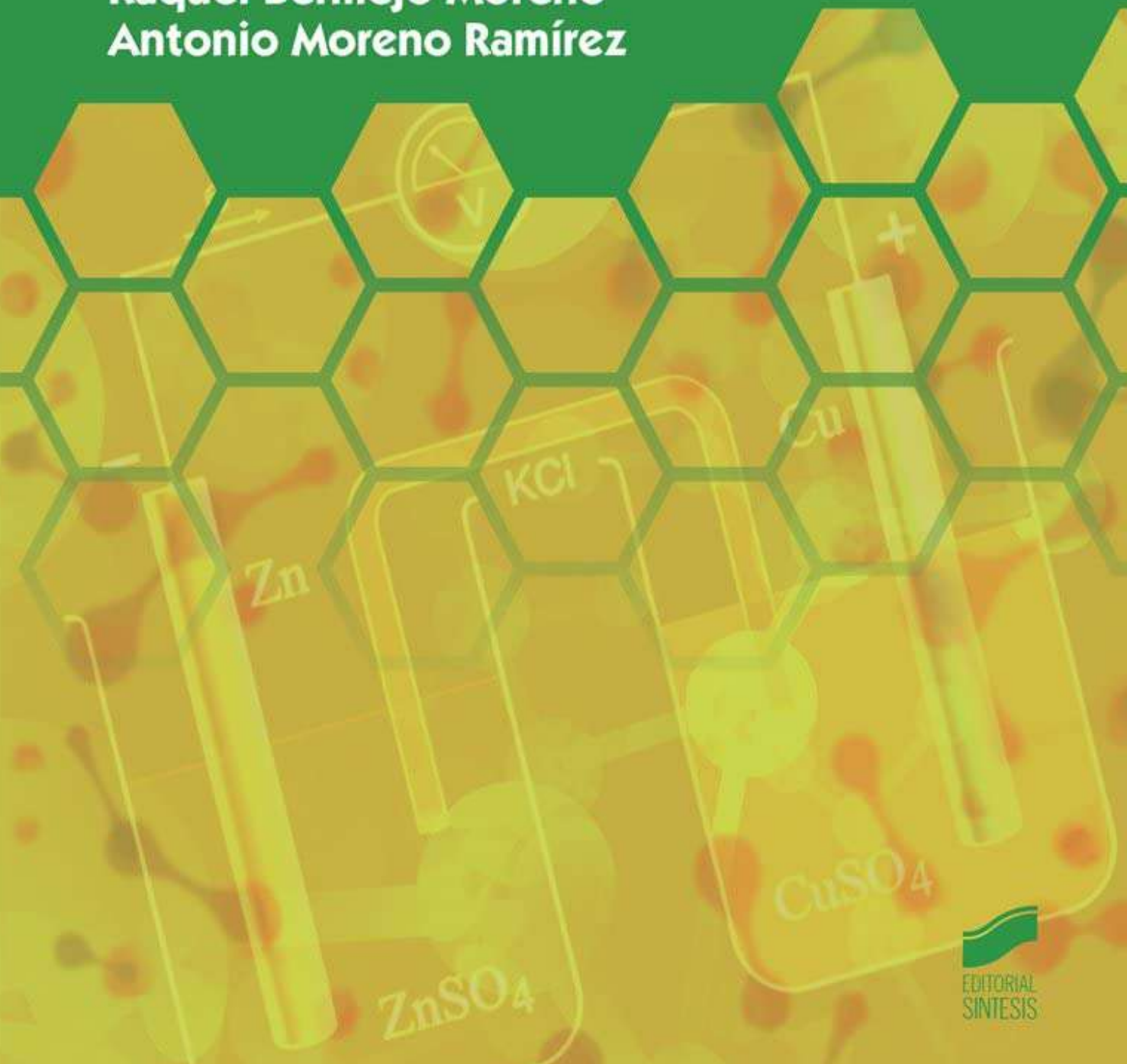
Análisis instrumental

Raquel Bermejo Moreno
Antonio Moreno Ramírez



EDITORIAL SÍNTESIS

Análisis instrumental

Consulte nuestra página web: **www.sintesis.com**
En ella encontrará el catálogo completo y comentado



Queda prohibida, salvo excepción prevista en la ley, cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública y transformación de esta obra sin contar con autorización de los titulares de la propiedad intelectual. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutiva de delito contra la propiedad intelectual (arts. 270 y sigs. Código Penal). El Centro Español de Derechos Reprográficos (www.cedro.org) vela por el respeto de los citados derechos.

Análisis instrumental

Raquel Bermejo Moreno
Antonio Moreno Ramírez

EDITORIAL SINTESIS

© Raquel Bermejo Moreno
Antonio Moreno Ramírez

© EDITORIAL SÍNTESIS, S. A.
Vallehermoso, 34. 28015 Madrid
Teléfono 91 593 20 98
http://www.sintesis.com

ISBN: 978-84-907758-1-3

Impreso en España - Printed in Spain

Reservados todos los derechos. Está prohibido, bajo las sanciones penales y el resarcimiento civil previstos en las leyes, reproducir, registrar o transmitir esta publicación, íntegra o parcialmente, por cualquier sistema de recuperación y por cualquier medio, sea mecánico, electrónico, magnético, electroóptico, por fotocopia o por cualquier otro, sin la autorización previa por escrito de Editorial Síntesis, S. A.

Índice

PRÓLOGO 13

PARTE I
CONCEPTOS BÁSICOS SOBRE LAS TÉCNICAS INSTRUMENTALES

1. INTRODUCCIÓN AL ANÁLISIS INSTRUMENTAL 17

Objetivos 17
Mapa conceptual 18
Glosario 19
1.1. Introducción al análisis químico 19
1.2. Propiedades de los métodos analíticos 23
1.3. Clasificación de las técnicas de análisis químico 26
1.3.1. Según el tipo de información requerida 26
1.3.2. Según la escala de trabajo 27
1.3.3. Según el fundamento de la técnica 28
1.4. Ventajas de los métodos instrumentales frente a los métodos químicos ... 34
1.5. Criterios para la elección de un método 35
Resumen 36
Actividades de autoevaluación 37

2. CALIBRACIÓN DE TÉCNICAS INSTRUMENTALES 39

Objetivos 39
Mapa conceptual 40

Glosario 41
2.1. Introducción: métodos de análisis absolutos y relativos 41
2.2. Preparación de disoluciones patrón 43
2.3. Metodologías de calibrado 48
2.3.1. Curva de calibrado mediante patrones externos 48
2.3.2. Adición estándar 51
2.3.3. Patrón interno 53
Resumen 56
Ejercicios propuestos 56
Actividades de autoevaluación 58

PARTE II
TÉCNICAS ELECTROQUÍMICAS

3. POTENCIOMETRÍA 63

Objetivos 63
Mapa conceptual 64
Glosario 65
3.1. Fundamento 65
3.2. Instrumentación 71
3.2.1. El electrodo de referencia 72
3.2.2. El electrodo indicador 75
3.2.3. Potenciómetro o dispositivo de medida de potencial 80
3.3. Características analíticas y aplicaciones 80
3.3.1. Potenciometría directa 81
3.3.2. Valoraciones potenciométricas 83
3.4. Metodología de análisis 86
Resumen 88
Práctica n.º 1 88
Práctica n.º 2 88
Práctica n.º 3 89
Ejercicios propuestos 90
Actividades de autoevaluación 92

4. CONDUCTIMETRÍA 93

Objetivos 93
Mapa conceptual 94
Glosario 95
4.1. Fundamento 95
4.2. Instrumentación 100
4.3. Características analíticas y aplicaciones 103
4.4. Metodología 110
Resumen 114

Práctica n.º 4 114
Práctica n.º 5 115
Práctica n.º 6 116
Ejercicios propuestos 116
Actividades de autoevaluación 117

5. ELECTROGRAVIMETRÍA, COULOMBIMETRÍA Y VOLTAMPEROMETRÍA 119

Objetivos 119
Mapa conceptual 120
Glosario 121
5.1. Introducción 121
5.2. Electrogravimetría 122
5.2.1. Fundamento 122
5.2.2. Instrumentación 125
5.2.3. Características analíticas y aplicaciones 128
5.2.4. Metodología 129
5.3. Coulombimetría 130
5.3.1. Fundamento 130
5.3.2. Instrumentación 132
5.3.3. Características analíticas y aplicaciones 134
5.4. Voltamperometría 137
5.4.1. Fundamento 137
5.4.2. Instrumentación 139
5.4.3. Características analíticas y aplicaciones 141
5.4.4. Tipos de voltamperometrías 142
Resumen 143
Práctica n.º 7 143
Práctica n.º 8 144
Ejercicios propuestos 145
Actividades de autoevaluación 146

PARTE III
TÉCNICAS ÓPTICAS ESPECTROSCÓPICAS Y NO ESPECTROSCÓPICAS

6. INTRODUCCIÓN A LAS TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS 151

Objetivos 151
Mapa conceptual 152
Glosario 153
6.1. Fundamento 153
6.1.1. Características de la radiación electromagnética 154
6.1.2. Interacciones espectroscópicas de la radiación electromagnética y la materia .. 156

6.2. Clasificación de las técnicas espectroscópicas 159
6.2.1. Clasificación según el tipo de fenómeno espectroscópico 159
6.2.2. Clasificación según la naturaleza de la especie química involucrada 160
6.2.3. Clasificación según la región del espectro 160
Resumen 161
Actividades de autoevaluación 161

7. ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN MOLECULAR UV-VISIBLE 163

Objetivos 163
Mapa conceptual 164
Glosario 165
7.1. Fundamento 165
7.2. Instrumentación 170
7.2.1. Componentes de los instrumentos 171
7.2.2. Tipos de instrumentos 181
7.3. Características analíticas y aplicaciones 185
7.3.1. Análisis cualitativo 186
7.3.2. Análisis cuantitativo 187
7.4. Metodología 188
Resumen 193
Práctica n.º 9 194
Práctica n.º 10 195
Ejercicios propuestos 196
Actividades de autoevaluación 198

8. ESPECTROSCOPÍA INFRARROJA 201

Objetivos 201
Mapa conceptual 202
Glosario 203
8.1. Fundamento 203
8.2. Instrumentación 205
8.2.1. Tipos de instrumentos 206
8.2.2. Componentes de los instrumentos 208
8.3. Características analíticas y aplicaciones 212
8.3.1. Análisis cualitativo 213
8.3.2. Análisis cuantitativo 214
8.4. Metodología 216
Resumen 218
Práctica n.º 11 219
Ejercicios propuestos 220
Actividades de autoevaluación 221

9. ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA 223

Objetivos 223
Mapa conceptual 224
Glosario 225
9.1. Fundamento 225
9.2. Instrumentación 227
9.2.1. Sistema de atomización 229
9.2.2. Fuente de radiación 236
9.2.3. Monocromador 239
9.2.4. Detector 240
9.3. Características analíticas y aplicaciones 240
9.4. Metodología 243
Resumen 245
Práctica n.º 12 246
Ejercicios propuestos 246
Actividades de autoevaluación 248

10. ESPECTROSCOPÍA DE EMISIÓN ATÓMICA 249

Objetivos 249
Mapa conceptual 250
Glosario 251
10.1. Fundamento 251
10.2. Instrumentación 253
10.3. Fotometría de llama 254
10.4. Espectroscopía de emisión atómica con fuente de chispa y/o arco eléctrico 256
10.5. Espectroscopía de emisión atómica con fuente de plasma 258
Resumen 264
Práctica n.º 13 264
Ejercicios propuestos 264
Actividades de autoevaluación 266

11. OTRAS TÉCNICAS ÓPTICAS: ESPECTROSCOPÍAS DE LUMINISCENCIA. TURBIDIMETRÍA Y NEFELOMETRÍA 267

Objetivos 267
Mapa conceptual 268
Glosario 269
11.1. Técnicas luminiscentes 269
11.1.1. Fluorescencia 270
11.1.2. Quimioluminiscencia 274
11.2. Turbidimetría y nefelometría 276
11.2.1. Fundamento 276

11.2.2. Instrumentación 279
11.2.3. Características analíticas y aplicaciones 281
11.2.4. Metodología 282
Resumen 284
Práctica n.º 14 285
Ejercicios propuestos 286
Actividades de autoevaluación 286

PARTE IV
TÉCNICAS MAGNÉTICAS

12. ESPECTROMETRÍA DE MASAS Y RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR 291

Objetivos 291
Mapa conceptual 292
Glosario 293
12.1. Espectrometría de masas 293
12.1.1. Fundamento 293
12.1.2. Instrumentación 294
12.1.3. Características analíticas y aplicaciones 301
12.2. Resonancia magnética nuclear 303
12.2.1. Fundamento 303
12.2.2. Instrumentación 307
12.2.3. Características analíticas y aplicaciones 309
Resumen 311
Ejercicios propuestos 311
Actividades de autoevaluación 312

PARTE V
TÉCNICAS INSTRUMENTALES DE SEPARACIÓN

13. INTRODUCCIÓN A LAS TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS 317

Objetivos 317
Mapa conceptual 318
Glosario 319
13.1. Introducción a la cromatografía 319
13.2. Clasificación de las cromatografías 321
13.3. Parámetros básicos de cromatografía 323
13.4. Características analíticas y aplicaciones 329
Resumen 333
Práctica n.º 15 334
Práctica n.º 16 335
Ejercicios propuestos 337
Actividades de autoevaluación 339

14. CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC) Y CROMATOGRAFÍA DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (SFC) 341

Objetivos 341
Mapa conceptual 342
Glosario 343
14.1. Introducción a HPLC 343
14.2. Instrumentación en HPLC 345
14.2.1. Sistema de suministro de fase móvil 346
14.2.2. Sistemas de inyección de la muestra 349
14.2.3. Columna 352
14.2.4. Detector 355
14.3. Características analíticas y aplicaciones de HPLC 357
14.4. Metodología en HPLC 357
14.5. Cromatografía de fluidos supercríticos (FSC) 361
14.5.1. Fundamento 361
14.5.2. Instrumentación 362
14.5.3. Características analíticas y aplicaciones 363
Resumen 364
Práctica n.º 17 364
Práctica n.º 18 365
Ejercicios propuestos 366
Actividades de autoevaluación 367

15. CROMATOGRAFÍA DE GASES 369

Objetivos 369
Mapa conceptual 370
Glosario 371
15.1. Introducción 371
15.2. Instrumentación 372
15.2.1. Fuente de gas 373
15.2.2. Sistemas de inyección 374
15.2.3. Columnas 377
15.2.4. Horno 380
15.2.5. Detectores 380
15.3. Características analíticas y aplicaciones 383
15.4. Metodología 385
Resumen 387
Práctica n.º 19 387
Ejercicios propuestos 388
Actividades de autoevaluación 389

BIBLIOGRAFÍA 391

Prólogo

Este libro trata de dar respuesta a la necesidad de un texto centrado en las técnicas instrumentales de análisis químico adaptado a los actuales planes de estudio de la Formación Profesional de grado superior.

Para ello, se explican de forma asequible los fundamentos de los análisis químicos que se realizan actualmente mediante técnicas instrumentales, especialmente en el ámbito de los laboratorios de control de calidad, y dar a conocer los componentes de los equipos analíticos más utilizados. Pero sobre todo hemos querido transmitir el "saber hacer", ya que el objetivo fundamental de esta etapa educativa es la adquisición de competencia profesional. Creemos que este propósito se consigue fundamentalmente con la realización de actividades en el laboratorio, por lo que el libro pretende mostrar los aspectos prácticos de las diferentes técnicas analíticas, incluyendo la metodología detallada que debe seguirse en algunos de los análisis instrumentales más habituales. Aspiramos a que este libro sirva de punto de partida para la puesta en práctica de los conceptos y contenidos que en él se recogen.

Desearíamos no haber errado mucho en nuestra labor, y quedamos a disposición de los que nos lean, agradeciéndoles de antemano las observaciones que quieran hacernos.

A todos los que de un modo u otro han hecho posible este libro, gracias.

"Me lo contaron y lo olvidé, lo vi y lo entendí, lo hice y lo aprendí"
Confucio

Parte I

Conceptos básicos sobre las técnicas instrumentales

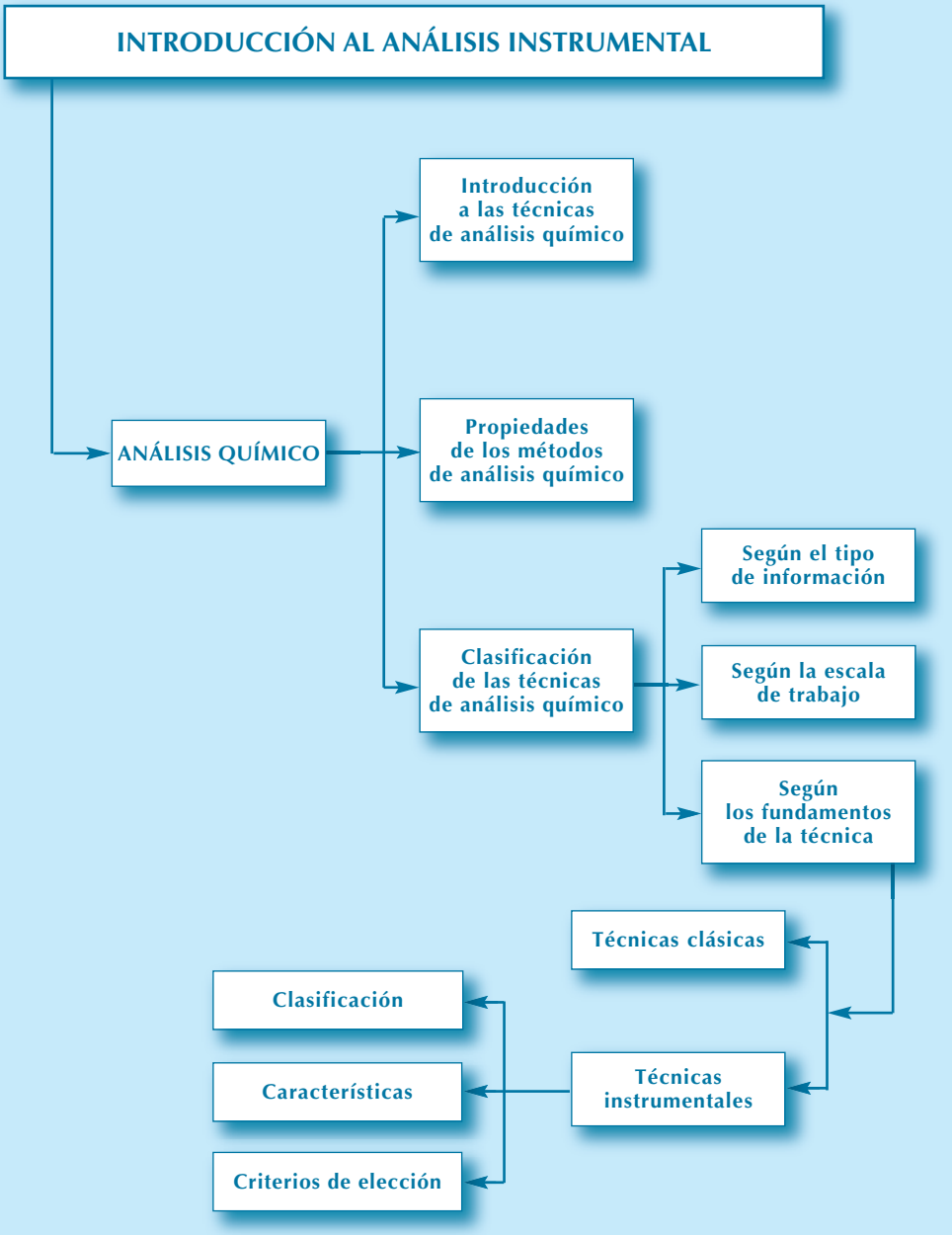
1

Introducción al análisis instrumental

Objetivos

1. Aportar una visión general del proceso y de las técnicas de análisis químico.
2. Conocer las propiedades que caracterizan a los métodos de análisis.
3. Diferenciar los tipos de técnicas de análisis, en función de diferentes criterios, centrándose especialmente en las técnicas instrumentales, sus fundamentos y principales características.
4. Aprender los criterios que se deben tener en cuenta para elegir una técnica de análisis.

Mapa conceptual del capítulo


INTRODUCCIÓN AL ANÁLISIS INSTRUMENTAL
ANÁLISIS QUÍMICO
Introducción a las técnicas de análisis químico
Propiedades de los métodos de análisis químico
Clasificación de las técnicas de análisis químico
Según el tipo de información
Según la escala de trabajo
Según los fundamentos de la técnica
Técnicas clásicas
Técnicas instrumentales
Clasificación
Características
Criterios de elección

Glosario

Blanco. Sustancia o material idéntico a la muestra que se pretende analizar, pero que no contiene el analito.

Calibración. Operación que permite establecer la relación entre la indicación de un instrumento o sistema de medida, y el valor de la magnitud que se desea medir, mediante el empleo de patrones.

Error aleatorio. Diferencia entre el valor de una medida y el valor de referencia, asignable a causas impredecibles, no controlables y no evitables, y cuya magnitud fluctúa de manera aleatoria.

Error sistemático. Diferencia entre el valor de una medida y el valor de referencia, asignable a causas identificables, y que introduce un sesgo en el resultado ya que en medidas repetidas afecta de manera constante o varía según una tendencia predecible.

Isótopos. Variantes de un elemento químico que difieren en la cantidad de neutrones; la mayoría de los elementos químicos presentan diferentes isótopos, algunos de los cuales son inestables, mostrando una tendencia natural a estabilizarse mediante desintegración radiactiva.

Norma. Documento que contiene especificaciones técnicas, de aplicación voluntaria, elaborado por consenso entre las partes interesadas, aprobado por un organismo de normalización reconocido y que está a disposición del público.

Magnitud. Atributo o propiedad de un fenómeno o material que puede determinarse cuantitativamente.

Patrón analítico. Sustancia de la que se conoce el valor de una o más magnitudes (habitualmente la concentración de un determinado componente), que se emplea como referencia para calibrar equipos de medida o contrastar la trazabilidad de las medidas.

Validación analítica. Conjunto de operaciones conducentes a la verificación y documentación de la validez de un método de análisis, es decir, de su adecuación a unos determinados requisitos previamente establecidos, que vienen dados en forma de criterios de calidad.

1.1. Introducción al análisis químico

El análisis químico consiste en el estudio de la materia con la finalidad de obtener información cualitativa (identificación de los componentes presentes en una muestra así como de su estado y estructura) o cuantitativa (composición en términos de concentración de uno o varios de los componentes presentes en una muestra), como se muestra en la figura 1.1.

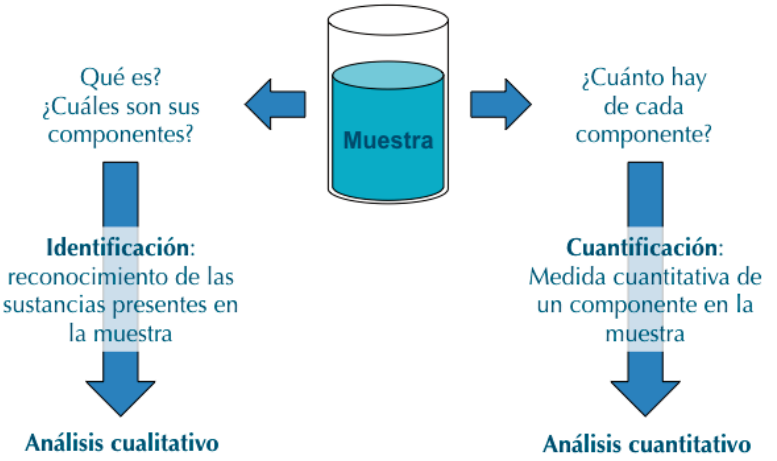

Qué es?
¿Cuáles son sus componentes?
Muestra
¿Cuánto hay de cada componente?
Identificación: reconocimiento de las sustancias presentes en la muestra
Cuantificación: Medida cuantitativa de un componente en la muestra
Análisis cualitativo
Análisis cuantitativo

Figura 1.1
Aspectos cualitativo y cuantitativo del análisis químico

PARA SABER MÁS

Evolución y tendencias en el desarrollo de las técnicas de análisis químico

Hace ya tiempo que se dejó de considerar la Química Analítica como una ciencia "auxiliar" o como un simple conjunto de técnicas o métodos con los que obtener información sobre una muestra. Gracias al desarrollo que ha sufrido en las últimas décadas es considerada en la actualidad como una ciencia por derecho propio. Esta evolución ha sido la respuesta a una necesidad de información que permitiera el desarrollo en ámbitos como la salud y la medicina, la alimentación, los nuevos materiales, el medio ambiente, la eficiencia energética, etc. Esto ha conducido a un incremento sorprendente en la variedad, capacidad y grado de complejidad de las técnicas de análisis químico, especialmente de las denominadas técnicas instrumentales. Algunos de los cambios más notables que han tenido y que tienen lugar en la actualidad son los siguientes:

- La progresiva sustitución de las técnicas analíticas clásicas (volumetrías y gravimetrías) por técnicas instrumentales.
- El desarrollo de las técnicas de separación como herramientas de análisis, especialmente la cromatografía, y principalmente en el ámbito de la bioquímica, la electroforesis.
- La difusión creciente de técnicas sofisticadas, como la resonancia magnética nuclear, la espectrometría de masas o la espectroscopía basada en el uso de plasmas, con un alto coste económico y cuyo uso requiere un cierto grado de especialización.
- La introducción de la informática, tanto para el control de los instrumentos de análisis, como para la adquisición y procesamiento de los datos.

- La automatización de procesos rutinarios, que permite eliminar o minimizar muchas operaciones manuales, con el consiguiente aumento en la precisión y en la capacidad de procesar un gran número de muestras en un corto periodo de tiempo.
- El desarrollo de técnicas conjuntas, o hibridación de técnicas, como ha ocurrido por ejemplo entre la cromatografía y la espectrometría de masas, lo que ha potenciado extraordinariamente la capacidad de obtener información en relación con la que podían suministrar cada una de las técnicas por separado.

El proceso analítico se define como el conjunto de operaciones que se inicia con el planteamiento de un problema analítico (¿qué componentes hay en una muestra?, ¿cómo es la estructura de un determinado componente?, ¿en qué concentración está presente?) y finalizan con la obtención de unos resultados que satisfacen las exigencias del problema planteado. Incluye por tanto las operaciones de toma de muestra así como su tratamiento, previo a la etapa de medida (figura 1.2).

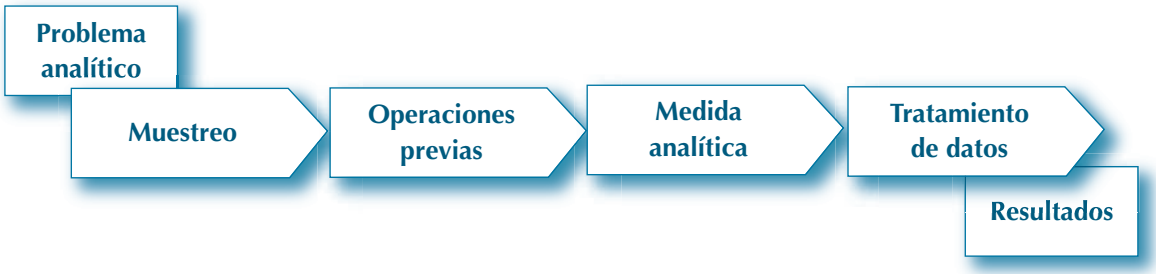


Figura 1.2
Etapas del proceso analítico

Es conveniente establecer claramente la distinción entre varios términos asociados al análisis químico:

- La muestra es una porción representativa del material u objeto de estudio. Generalmente la materia no está constituida por elementos o compuestos químicos puros, sino por una mezcla de diversos componentes.
- El *analito* es el componente de interés, presente en la muestra, del que se desea obtener algún tipo de información: presencia, concentración, estado, etc. El conjunto de los restantes componentes de la muestra, distintos del analito, se denomina *matriz*. Aquellas sustancias distintas del analito que puedan introducir un error sistemático en el resultado del análisis se denominan *interferentes* o *interferencias*. La influencia que en general pueda tener la matriz sobre las propiedades analíticas de los analitos se denomina *efecto matriz*.
- El término *análisis* designa al proceso físico o químico por el cual se obtiene información acerca de los constituyentes de una muestra o de la muestra por sí misma. Este término se aplica a materiales, muestras u objetos, no a analitos ni a parámetros analíticos (concentración de un determinado componente, pH, etc.). Ejemplos: análisis de sangre, análisis de aguas, análisis de alimentos, etc.

- La *determinación* es la realización de las operaciones necesarias durante el proceso de análisis, para obtener información sobre la identidad, la cantidad o las propiedades del analito o analitos de interés. Se puede referir tanto a un analito como a cualquier parámetro analítico. Ejemplos: determinación de fosfatos, determinación del índice de acidez, etc.
- La realización de esta determinación requiere de la *medida* de una o varias de las propiedades físicas o químicas de los analitos. Ejemplos: medida del potencial eléctrico, medida de la absorbancia, de la intensidad de emisión, del volumen de agente valorante, etc. El término *medida* hace referencia por tanto a la evaluación cuantitativa de una propiedad física o química de un determinado analito.

Otros términos asociados al análisis químico, relacionados con el grado de concreción con el que se describe la metodología que se aplica en el proceso analítico (figura 1.3), son los siguientes:

- *Técnica analítica*: principio físico o químico que puede ser utilizado para analizar una muestra, u obtener información sobre un analito. Son técnicas analíticas, por ejemplo, la gravimetría o la espectroscopía ultravioleta-visible.
- *Método*: aplicación concreta de una técnica analítica para el análisis de una muestra definida y la obtención de una información determinada. Incluye todas las operaciones implicadas hasta la obtención del resultado final. Ejemplos: determinación gravimétrica de sulfatos en agua; determinación espectrofotométrica del índice de fenol en agua; método de Mohr para determinación de cloruros en agua, etc.
- *Procedimiento*: conjunto de directrices escritas que explican cómo aplicar un método a una muestra en particular.

  Aunque aporta un mayor grado de concreción con respecto al método, el procedimiento supone que el usuario encargado de su aplicación posee conocimientos previos de la metodología analítica y por tanto no proporciona un detalle exhaustivo.

  Las normas para la realización de determinados análisis, elaboradas por ciertas organizaciones como AENOR o ISO, son ejemplos de procedimientos: UNE-ISO 6439:2013 (*Calidad del agua. Determinación del índice de fenol. Método espectrométrico de la 4-aminoantipirina después de la destilación*.)

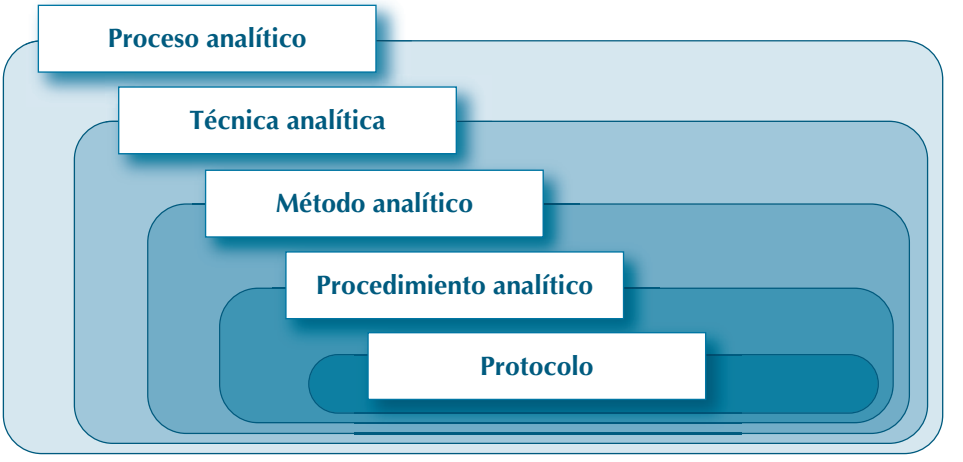


Figura 1.3
Esquema del grado de concreción de la metodología que se aplica en el proceso analítico

- *Protocolo*: contiene detalles específicos que no recoge el procedimiento, y que deben seguirse sin excepción si se pretende que los resultados analíticos sean aceptados para un propósito particular, que suele implicar la toma de decisiones por parte de algún ente (valor probatorio, aplicación de sanciones, retirada de un producto, etc.).

  Cada uno de los conceptos anteriores implica un mayor grado de concreción.

1.2. Propiedades de los métodos analíticos

Los métodos analíticos presentan un conjunto de propiedades o parámetros de calidad, que permiten decidir sobre su idoneidad a la hora de aplicarlo a un problema analítico determinado. Estos parámetros de calidad se pueden agrupar en las categorías jerarquizadas que se muestran en el cuadro 1.1.

Cuadro 1.1
Parámetros de calidad de los métodos analíticos

Propiedades supremas	Propiedades básicas	Propiedades complementarias
Exactitud	Precisión	Rapidez
Representatividad	Sensibilidad	Coste
	Límites de detección y cuantificación	Otros, como necesidades de personal, seguridad, grado de automatización
	Intervalo lineal e intervalo dinámico	
	Selectividad	
	Robustez	

Las propiedades supremas y básicas inciden principalmente en la calidad de los resultados analíticos, mientras que las propiedades complementarias están asociadas con la productividad del laboratorio.

A continuación se van a definir los diferentes parámetros de calidad considerados supremos y básicos para un método analítico:

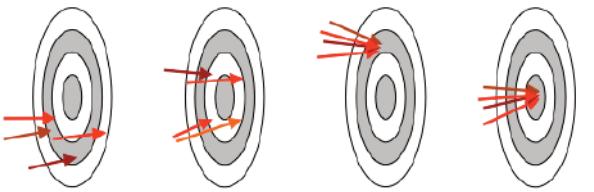
- *Exactitud*: es el grado de concordancia entre el valor obtenido en la medida de una magnitud y el valor que se considera real.

  Aunque en ocasiones se relaciona la exactitud únicamente con los errores sistemáticos, depende de la presencia tanto de errores sistemáticos como aleatorios. El parámetro que cuantifica la contribución de los errores sistemáticos es el *sesgo*: se puede definir como la diferencia entre la media de un conjunto de medidas repetidas y el valor que se considera real.
- *Representatividad*: es la propiedad de un método de análisis de ofrecer un resultado coherente con el problema analítico planteado. Se consigue en gran medida mediante un muestreo adecuado (incluyendo las etapas de transporte, almacenamiento y adecuación de la muestra).

- *Precisión*: es el grado de concordancia entre los resultados de una serie de medidas repetidas. Depende de la magnitud de los errores aleatorios.

  La precisión se puede medir a partir de resultados obtenidos al repetir la medida en condiciones de mínima variabilidad (aplicar el mismo método al mismo material, en las mismas condiciones, en la misma sesión de trabajo), y entonces se habla de *repetibilidad*, o bien aplicar el método en condiciones de mayor variabilidad (diferentes equipos, reactivos, operadores, jornadas de trabajo…); se habla entonces de *reproducibilidad*.

  La figura 1.4 muestra una típica analogía entre los resultados de un método analítico y los obtenidos en el lanzamiento de dardos sobre una diana. Cada uno de los cuatro métodos simbolizados muestra una influencia diferente de los errores sistemáticos y aleatorios.



Exacto	**no**	**no**	**no**	**sí**
Preciso	**no**	**no**	**sí**	**sí**
Sesgo	**sí**	**no**	**sí**	**no**

Figura 1.4
Representación gráfica del significado de algunos parámetros de calidad de los métodos analíticos

- *Sensibilidad*: es la capacidad de un método analítico de diferenciar concentraciones de analito muy parecidas. En los métodos instrumentales se identifica con la pendiente de la recta de calibrado que se obtiene cuando la señal analítica se representa frente a la concentración de analito. La figura 1.5 muestra las rectas de calibrado correspondientes a dos métodos diferentes. El método B, que muestra una recta de mayor pendiente, da lugar a dos señales más separadas entre sí, para dos concentraciones cercanas, x_1 y x_2, que el método A.

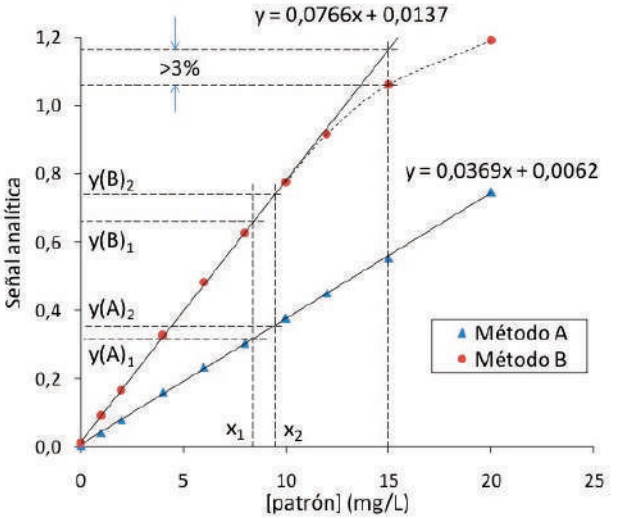


Figura 1.5
Comparación entre dos métodos analíticos en función de las curvas de calibrado obtenidas

Es frecuente identificar la sensibilidad con la capacidad del método de detectar o cuantificar pequeñas cantidades de analito; sin embargo, esta capacidad se mide mediante los límites de detección y cuantificación, respectivamente, como veremos a continuación.

- *Límite de detección (LD)*: es la concentración más baja de analito en una muestra que un método de análisis puede distinguir de una muestra de concentración nula (un blanco).
- *Límite de cuantificación (LC)*: es la concentración más baja de analito que un método analítico puede cuantificar con un nivel aceptable de exactitud y precisión. Por debajo de este valor no es posible dar un resultado cuantitativo fiable; únicamente es posible detectar la presencia del analito.

La figura 1.6 muestra los tres intervalos de concentraciones que vienen definidos por LD y LC. Por debajo de LD no es posible afirmar que el analito está presente en la muestra. Entre LD y LC nos encontramos en la región de detección: se puede detectar la presencia de analito, pero no es posible cuantificar de manera aceptable su concentración. Por encima de LC la concentración de analito puede ser cuantificada.

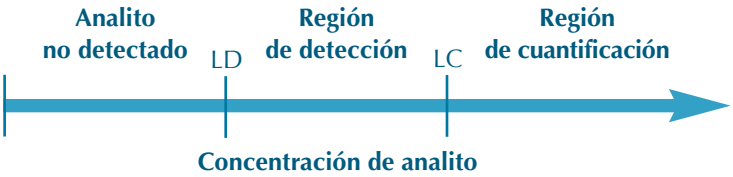


Figura 1.6
Intervalos de no detección, detección y cuantificación, definidos por los límites de detección y cuantificación

- *Intervalo lineal*: intervalo de concentración de analito en el que la sensibilidad es aproximadamente constante. Su límite inferior es LC, mientras que el límite superior es habitual fijarlo como aquella concentración de analito que no se separa en más de un 3% de la linealidad.

  En la figura 1.5 la señal que proporciona el método B para el patrón de concentración 15 mg/L se desvía en más de un 3% del valor sobre la recta de regresión, por lo que se queda fuera del intervalo lineal.
- *Selectividad*: es la capacidad del método de proporcionar la señal analítica originada por el analito de interés, sin que ésta se vea afectada por otros compuestos presentes. Se materializa en la presencia/ausencia de sustancias interferentes. La selectividad extrema se denomina *especificidad*: ninguna sustancia interfiere y la señal analítica se debe exclusivamente al analito.
- *Robustez*: cualidad de un método analítico que mide su capacidad de resistir pequeños cambios en las condiciones de operación sin que su funcionamiento se vea alterado.

  Para evaluar la robustez se trata de identificar aquellas variables que tengan un efecto crítico sobre su exactitud, precisión, selectividad, etc., de modo que éstas serán las variables que habrá que controlar más durante la aplicación rutinaria del método. Algunos factores que habitualmente son objeto de estudio son pH, fuerza iónica, concentración de algunos reactivos, orden de adición, temperatura, composición de la fase móvil en cromatografía de líquidos, caudal, etc.

1.3. Clasificación de las técnicas de análisis químico

El elevado número y variedad de las técnicas de análisis químico que existen actualmente hacen difícil una clasificación exhaustiva de las mismas. En los siguientes apartados se presentarán diferentes criterios de clasificación que se resumen en el cuadro 1.2.

CUADRO 1.2
Clasificación de las técnicas de análisis instrumental según diferentes criterios

Técnicas de análisis químico			
Según el tipo de información	***Según la escala de trabajo***		***Según los fundamentos de la técnica***
	Tamaño de muestra	***Concentración del analito***	
Análisis cualitativo	Macroanálisis	Análisis de macrocomponentes	Técnicas químicas (clásicas)
Análisis cuantitativo	Semimicroanálisis		
Análisis estructural	Microanálisis	Análisis de microcomponentes	Técnicas instrumentales (fisicoquímicas)
	Ultramicroanálisis	Análisis de trazas	

1.3.1. Según el tipo de información requerida

En una primera aproximación el análisis químico se podría clasificar en función del tipo de información que proporciona, pudiéndose distinguir entonces entre análisis cualitativo y análisis cuantitativo (figura 1.1).

El objetivo del análisis cualitativo es identificar la presencia del analito a partir de una determinada propiedad del mismo o bien a partir de sus productos de reacción (un precipitado, un producto coloreado).

El análisis cuantitativo aporta información sobre la cantidad o concentración de uno o más componentes de una muestra. Obviamente el análisis cuantitativo proporciona más información, pero también tiene un mayor grado de complejidad y requiere más medios, tiempo y coste económico. La aplicación de uno u otro tipo de análisis depende del tipo de información que se demande. Así, por ejemplo, para realizar un test de embarazo es suficiente con la detección de una determinada hormona; la presencia de un tóxico en un alimento se puede realizar mediante un análisis cualitativo; si se desea conocer si dicho tóxico está en suficiente cantidad como para representar un riesgo sanitario sería necesario un análisis cuantitativo.

En general, si no se conoce la composición de la muestra problema se debe realizar en primer lugar un análisis cualitativo antes de proceder a su análisis cuantitativo, y no únicamente para conocer la presencia del analito, sino también de otros componentes presentes en la matriz que

pudieran actuar como interferentes. En muchas ocasiones sin embargo se conoce la composición cualitativa de una muestra por su origen, y este es el caso especialmente en aquellos laboratorios donde se realizan análisis de rutina para control de calidad, por lo que la mayor parte de los análisis químicos que se realizan habitualmente son cuantitativos.

Otro tipo de información que puede proporcionar el análisis químico de la materia hace referencia a los aspectos estructurales del compuesto objeto de análisis: tipos de enlace y grupos funcionales presentes, disposición geométrica de los átomos o iones que forman el compuesto, etc. Se habla en este caso de análisis estructural.

Las técnicas que se utilizan para uno y otro tipo de análisis tienen en la mayoría de los casos fundamentos comunes. A lo largo de este libro se irá viendo cómo muchas de las técnicas instrumentales que se presentan pueden aportar tanto información cualitativa como cuantitativa.

1.3.2. Según la escala de trabajo

La cantidad de muestra de la que se dispone supone un condicionante importante a la hora de emplear una u otra técnica analítica. El cuadro 1.3 muestra el tipo de análisis en función del tamaño de muestra, tanto en el caso de muestras sólidas como líquidas.

Otro aspecto importante que se debe considerar a la hora de elegir el método de análisis más adecuado es la concentración en la que está presente el analito en la muestra. En función de este criterio se pueden distinguir distintos tipos de análisis (cuadro 1.4).

Cuadro 1.3
Tipo de análisis según el tamaño de la muestra

Tipo de análisis	Peso de muestra (mg)	Volumen de muestra (mL)
Macroanálisis	> 100	> 10
Semimicroanálisis	100 – 10	10 – 1
Microanálisis	10 – 1	1 – 0,1
Ultramicroanálisis	< 1	< 0,1

Cuadro 1.4
Técnicas de análisis según la concentración de los analitos

Técnicas para análisis de	Concentración
Macrocomponentes	> 1%
Microcomponentes	1 – 0,01%
Trazas	< 0,01%

1.3.3. Según el fundamento de la técnica

Un segundo punto de vista para la clasificación de las técnicas de análisis químico sería el fundamento de las mismas, y en este caso se pueden encontrar dos grandes grupos:

A) Técnicas químicas (o clásicas)

Están basadas en interacciones materia-materia, es decir, en una reacción química entre el analito (A) y un compuesto que reacciona específicamente con él (B) originando un producto (C) según una relación estequiométrica determinada:

$$a\,A \;+\; b\,B \rightarrow c\,C$$

La determinación del analito se puede realizar mediante medidas volumétricas o gravimétricas:

- Las volumetrías están basadas en la medida del volumen de disolución de un determinado reactivo *B* consumido en la reacción química. Ejemplos de métodos volumétricos de análisis son las alcalimetrías y acidimetrías; el método de Möhr o el método Fajans, que hacen uso de Ag^+ como agente valorante para determinar haluros en disolución; las yodometrías, dicromatometrías o permanganimetrías, basadas en reacciones redox; las complexometrías, como la que se emplea para determinar la dureza del agua, etc.
- Las gravimetrías están basadas en la medida de la masa del producto obtenido en un proceso en el que el analito se separa del resto de componentes de una muestra, separación que se puede llevar a cabo mediante precipitación o volatilización. Ejemplos de estos métodos son la determinación de níquel por precipitación con dimetilglioxima, determinación de sulfatos por precipitación con bario, etc.

La propiedad que se mide (volumen de disolución consumida en una reacción o masa del producto de una reacción) es directamente proporcional a la cantidad o concentración de analito, siendo el factor de proporcionalidad un valor constante, perfectamente definido, deducible de la estequiometría de la reacción. Desde el punto de vista de la trazabilidad estos métodos se denominan absolutos, ya que la relación entre la respuesta analítica (volumen de reactivo o masa de producto) y la concentración del analito se basa en la estequiometría de la reacción que tiene lugar. No es necesario establecer la relación entre la respuesta del método y la concentración o cantidad de analito presente.

Es habitual que la reacción química no sea específica para el analito que se desea determinar, por lo que suele ser necesaria una etapa previa para la eliminación de interferencias, bien mediante separación o por enmascaramiento.

Estas técnicas son objeto de estudio en el módulo de análisis químico.

B) Técnicas fisicoquímicas o instrumentales

Están basadas en interacciones materia-energía: se aprovecha la interacción de la materia con alguna forma de energía y se utiliza un instrumento más o menos complejo para cuantificar

el valor de alguna propiedad física o fisicoquímica del sistema objeto de análisis, la cual es dependiente de la concentración del analito de interés. Esta medida de la propiedad física o fisicoquímica es lo que se denomina *señal analítica* (figura 1.7).

Para que la muestra genere la señal analítica es necesario un estímulo previo de la misma mediante otro tipo de señal, generada por un dispositivo denominado *fuente*. Tanto la señal estímulo como la analítica deben ser debidamente acondicionadas para que puedan interaccionar debidamente con la muestra o con el detector, respectivamente. La respuesta del detector a la señal analítica suele ser de tipo eléctrico (intensidad o potencial eléctrico habitualmente) y también requiere un acondicionamiento adecuado para que pueda proporcionar información analítica precisa (amplificación, filtrado, conversión analógico-digital).

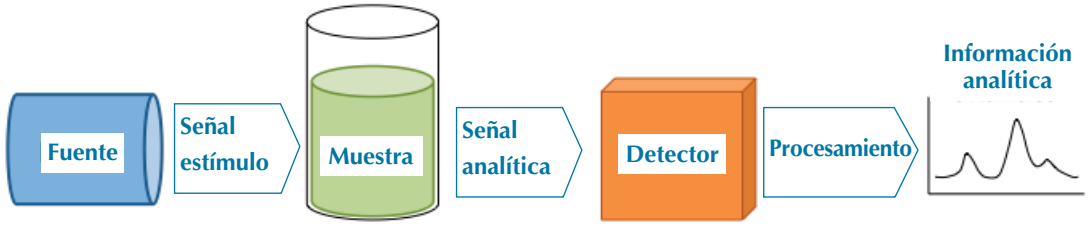


Figura 1.7
Esquema básico de las técnicas instrumentales de análisis

La señal analítica que proporcionan los instrumentos analíticos incorpora un componente que no aporta información sobre la muestra, denominado *ruido*, presente en mayor o menor grado en todas las señales analíticas instrumentales (figura 1.8). Las causas de este ruido pueden ser diversas, distinguiéndose habitualmente entre *ruido químico*, relacionado con el sistema objeto de estudio (pequeñas variaciones no detectadas de presión, humedad, temperatura, vibraciones, etc.) y *ruido instrumental*, generado por los distintos componentes del instrumento.

Para describir la calidad de un método o un instrumento analítico con respecto a este factor se utiliza la relación *señal/ruido*, definida como el cociente entre valor medio de una serie de medias repetidas y la desviación estándar de la serie. Una relación señal/ruido baja repercute negativamente en la exactitud y precisión de un método, así como en los límites de detección y cuantificación.

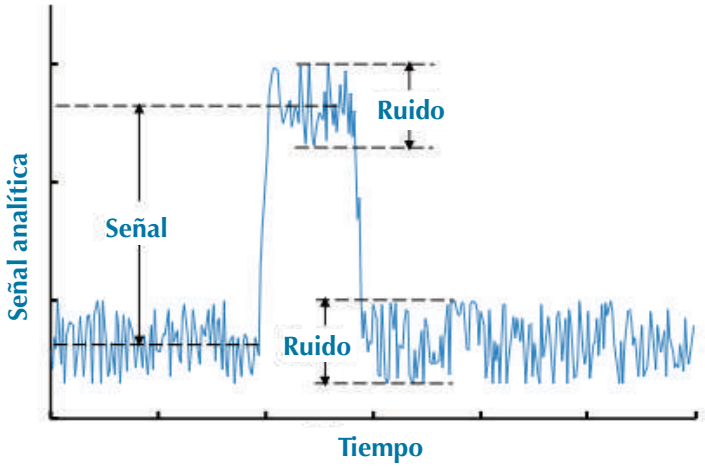


Figura 1.8
Respuesta de una técnica instrumental con el tiempo

Los métodos instrumentales tienen carácter relativo desde el punto de vista de la trazabilidad: se basan en la medida de una propiedad que es función de la concentración de analito, pero esta relación depende de las condiciones experimentales, por lo que se hace necesario una calibración, denominada analítica o metodológica, en la que se relaciona la propiedad medida con la concentración de varias muestras patrón.

Las técnicas instrumentales se pueden emplear como base para métodos de medida directa de la concentración de un analito, o bien como método para la detección del punto final en valoraciones volumétricas. En este caso se representa la variación de la señal analítica proporcionada por un instrumento en función del volumen de agente valorante añadido; según la técnica instrumental aplicada se obtienen curvas de valoración lineales o logarítmicas a partir de las cuales se puede determinar el punto final de la valoración (figura 1.9).

Otra aplicación importante de las técnicas instrumentales es como detectores en técnicas de separación como la cromatografía.

Las técnicas instrumentales pueden a su vez ser clasificadas en función de la naturaleza de los fenómenos implicados en la interacción entre la señal estímulo y la señal analítica. El cuadro 1.5 presenta una clasificación que no pretende ser exhaustiva, sino mostrar las técnicas más representativas de los grupos más importantes.

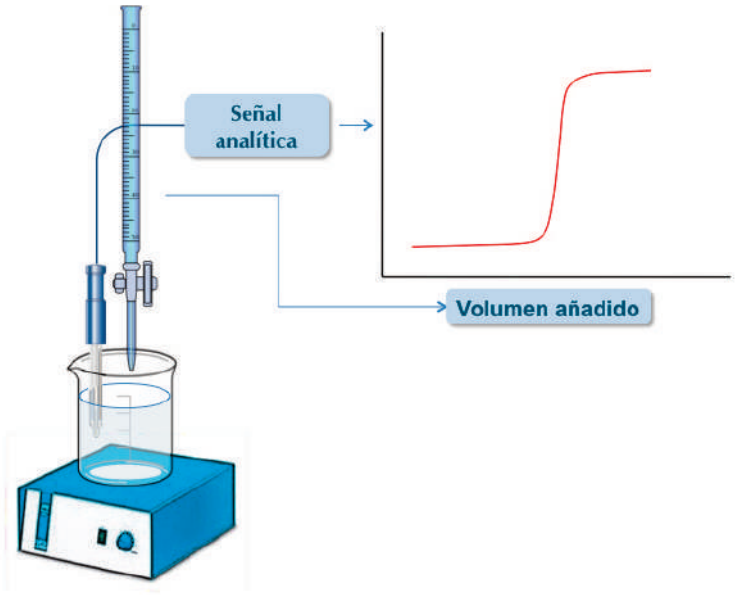


Figura 1.9
Aplicación de una técnica instrumental a la determinación del punto final en una volumetría.

B1. *Técnicas ópticas no espectroscópicas*

La señal estímulo consiste en una radiación electromagnética (luz visible, radiación ultravioleta, rayos X, electrones…) que interacciona con la muestra mediante fenómenos de tipo óptico: reflexión, refracción, difracción, polarización y dispersión de la luz, generando así una señal analítica

constituida por la radiación electromagnética tras su interacción con los componentes de la muestra. Este tipo de fenómenos está relacionado con la naturaleza ondulatoria de la luz.

Entre las técnicas que pertenecen a este grupo se pueden citar la microscopía (óptica o electrónica, basada en la reflexión de la radiación al incidir sobre la materia), la refractometría, la difracción de rayos X, la polarimetría, la turbidimetría y la nefelometría.

B2. *Técnicas ópticas espectroscópicas*

La señal analítica es una radiación electromagnética, como en el caso anterior, pero la interacción con la materia se basa en la naturaleza corpuscular de esta radiación, que se considera ahora compuesta por un haz de partículas denominadas fotones.

Esta interacción da lugar a transiciones entre diferentes niveles de energía de las especies involucradas, midiéndose la cantidad de radiación emitida o absorbida por las mismas cuando tienen lugar dichas transiciones.

Cuadro 1.5
Clasificación de las técnicas instrumentales de análisis químico

Técnicas		Ejemplos
Ópticas	No espectroscópicas	Refractometría Difracción de rayos X Polarimetría Turbidimetría y nefelometría
	Espectroscópicas	Absorción molecular UV-visible e IR Absorción atómica Emisión atómica Fluorescencia atómica y molecular Quimioluminiscencia
Electroquímicas		Potenciometría Conductimetría Voltamperometría Electrogravimetría Culombimetría
Magnéticas		Resonancia magnética nuclear (RMN) Resonancia paramagnética electrónica (EPR) Espectrometría de masas (con analizador magnético)
Térmicas		Análisis termogravimétrico (ATG) Análisis térmico diferencial (ATD) Calorimetría diferencial de barrido (DSC)
Radioquímicas		Análisis por activación por neutrones Dilución isotópica Radioinmunoanálisis (RIA)
Técnicas de separación		Cromatografía (de gases, HPLC y SFC) Electroforesis

B3. *Técnicas electroquímicas*

En este grupo de técnicas la muestra se hace formar parte de un circuito eléctrico y se mide la variación de alguno de los parámetros eléctricos básicos del mismo (potencial, resistencia o intensidad eléctrica, dando lugar a la potenciometría, conductimetría y voltamperometría, respectivamente), cuyo valor es función de la cantidad o concentración de analito presente. En otros casos se utiliza una corriente eléctrica para producir la transformación del analito mediante un proceso de oxidación o reducción, pudiéndose medir la cantidad de analito presente en la muestra directamente por pesada (electrogravimetría) o a través de la cantidad de electricidad necesaria para llevar a cabo la reacción (culombimetría).

Algunas de estas técnicas están presentes en prácticamente todos los laboratorios de análisis e incluso a nivel industrial, como es el caso de la potenciometría, para la medida del pH.

B4. *Técnicas magnéticas*

En estas técnicas se evalúa el comportamiento de la muestra, o de un componente de la misma, cuando se somete a la influencia de un campo magnético. Las propiedades magnéticas de la materia están íntimamente relacionadas con su estructura; por ese motivo los métodos basados en la investigación de las propiedades magnéticas son especialmente útiles para el estudio de la estructura de los compuestos.

Las técnicas más representativas de este grupo son las siguientes:

- Resonancia magnética nuclear (RMN): se basa en la interacción entre los momentos magnéticos de los núcleos atómicos con un campo magnético externo.
- Resonancia paramagnética electrónica (EPR) o resonancia de espín electrónico (ESR): se mide la absorción de radiación electromagnética, en el rango de las microondas, cuando se somete a un campo magnético a sustancias con átomos, iones o moléculas que tienen electrones desapareados.

Es posible encontrar bibliografía en la que estas técnicas se integran en el grupo de las espectroscopías, ya que tienen lugar procesos de absorción de radiación electromagnética; sin embargo se ha seguido en este caso las recomendaciones de la IUPAC, que las clasifica como técnicas magnéticas.

La espectrometría de masas se ha considerado tradicionalmente como una técnica magnética, ya que se basaba en la trayectoria diferencial que seguían los iones formados a partir de los componentes de la muestra, en el interior de un campo magnético, en función de su relación masa/carga. En la actualidad los analizadores magnéticos son uno más entre las diferentes modalidades que existen para diferenciar los iones, por lo que la IUPAC la encuadra en un capítulo independiente.

B5. *Técnicas térmicas*

Se basan en la evolución de las propiedades de una muestra cuando se somete a un proceso de calentamiento. Los efectos del calor sobre los materiales pueden ser variados y producir cam-

bios en muchas de sus propiedades, dando lugar así a un grupo de técnicas entre las que se pueden destacar las siguientes:

- *Termogravimetría o análisis termogravimétrico:* la muestra se coloca en una atmósfera controlada y se registra su masa en función de la temperatura, o en función del tiempo mientras se mantiene constante la temperatura. El resultado es un termograma o curva de descomposición térmica.
- *Análisis térmico diferencial (ATD):* se registra la diferencia de temperatura entre la muestra y un material de referencia mientras se someten al mismo programa de calentamiento.
- *Calorimetría diferencial de barrido (DSC):* se registra la diferencia en el cambio de entalpía entre la muestra y un material de referencia, cuando ambos se someten a un programa controlado de calentamiento para mantenerlos a la misma temperatura; dicho de otra forma, se mide la energía que es necesario suministrar a la muestra para mantenerla a la misma temperatura que el material de referencia.
- *Termodilatometría:* se miden los cambios en las dimensiones de un material en función de la temperatura.
- *Termooptometría:* se mide la evolución de alguna propiedad óptica en función de la temperatura.
- *Análisis electrotérmico:* se miden los cambios en la conductividad eléctrica en función de la temperatura.

Las principales aplicaciones de estas técnicas se encuentran en el ámbito de la investigación, aunque también en el control de calidad de procesos de fabricación de materiales cerámicos, poliméricos, etc.

B6. *Métodos radioanalíticos*

Estos métodos están basados en la medida de la radiación que emiten los isótopos radiactivos de determinados elementos. Esta medida se relaciona de alguna manera con la concentración del analito en la muestra. Los distintos métodos radioanalíticos se pueden diferenciar por el origen de la radiactividad:

- La radiactividad puede provenir espontáneamente de la muestra. Estos métodos se aplican para la determinación de elementos que presentan núcleos radiactivos como radón o uranio. Es también la base de varios métodos de datación radiométrica.
- La radiactividad puede ser inducida por irradiación o bombardeo de la muestra con radiación o partículas de características adecuadas. Este es el fundamento de los denominados *métodos de activación*, que suelen hacer uso de neutrones generados por reactores nucleares, radionúclidos o aceleradores para irradiar la muestra. Los neutrones son capturados por los núcleos del analito, dando lugar a un isótopo en estado excitado que libera su exceso de energía por emisión de rayos gamma o de una o más partículas nucleares, cuya medida proporciona información sobre el analito.
- La radiactividad puede ser introducida en la muestra mediante la mezcla con una cantidad conocida de la misma especie que se desea determinar, pero constituida o marcada con algún isótopo radiactivo, denominado marcador. Este es el fundamento de los denominados

métodos de dilución isotópica. Un ejemplo es el radioinmunoensayo (RIA), basado en la especificidad de la reacción antígeno-anticuerpo y muy usado en el ámbito de la química orgánica y la bioquímica.

Estos métodos presentan una alta sensibilidad, siendo a la vez específicos, por lo que se reduce o elimina incluso la necesidad de separaciones previas.

Como desventaja presentan los riesgos asociados al empleo de sustancias radiactivas, así como la necesidad de instalaciones y equipos adecuados.

B7. *Técnicas instrumentales de separación*

Tanto para análisis cualitativo como cuantitativo es habitual una etapa previa de separación de los componentes de la muestra, que puede tener como objetivo la separación de interferentes o bien la concentración del analito para conseguir una mayor sensibilidad.

Algunas de estas técnicas de separación han alcanzado un notable grado de tecnificación, aplicándose mediante instrumentos complejos. Además, la instrumentación correspondiente a estas técnicas incluye módulos para la detección y cuantificación de la señal que genera cada componente de la muestra. Por estos motivos, aunque no responden al esquema anteriormente descrito para explicar las técnicas instrumentales, se incluyen dentro de este grupo algunas técnicas de separación como son la electroforesis y las cromatografías de alta eficacia (cromatografía de gases y HPLC).

A lo largo de los capítulos de este libro se desarrollarán aquellas técnicas de mayor difusión y aplicabilidad en el ámbito del laboratorio de análisis químico.

1.4. Ventajas de los métodos instrumentales frente a los métodos químicos

Los métodos instrumentales presentan en general una alta selectividad, llegando incluso a la especificidad en algunas ocasiones, con lo que se hace innecesaria, o cobra menos importancia, la separación previa de analitos. Esto hace que el pretratamiento de las muestras sea muy sencillo, lo que redunda en un menor tiempo de operación.

Muchas técnicas instrumentales permiten además la realización simultánea de análisis cualitativo y cuantitativo.

Dado el carácter absoluto de los métodos químicos, basados como ya se ha visto en la medida de una masa o un volumen, la realización de un análisis es en muchas ocasiones más rápida que en el caso de los métodos instrumentales, que precisan de la preparación de varios patrones para realizar la calibración del método, dado su carácter relativo. Sin embargo, una vez realizado el calibrado, la rapidez con la que se puede analizar un número elevado de muestras es mucho mayor en el caso de las técnicas instrumentales.

Las técnicas instrumentales permiten en general la realización de análisis con pequeñas cantidades de muestra, y en ocasiones se trata de técnicas no destructivas, lo que las hace especialmente útiles en el caso de muestras valiosas o de las que se dispone de una cantidad muy escasa.

Los métodos químicos suelen presentar un mayor grado de exactitud cuando se miden altas concentraciones, sin embargo el error de estos métodos aumenta a medida que el nivel de concentración disminuye, presentando en este caso los métodos instrumentales mayor grado de exactitud.

Los métodos instrumentales suelen presentar, con respecto a las técnicas químicas, un mayor grado de sensibilidad y selectividad, aunque no siempre es así, por lo que para determinados análisis los métodos químicos resultan insustituibles.

Los métodos instrumentales son capaces de detectar y cuantificar cantidades de analito más pequeñas que los métodos clásicos, es decir, tienen límites de detección y cuantificación muy bajos. Esto los hace especialmente útiles en el análisis de trazas.

Son en general más fáciles de automatizar; tanto el control del instrumento como la recogida de datos son en la mayoría de los casos fácilmente informatizables.

Un factor que puede potenciar enormemente las prestaciones de las técnicas instrumentales es la posibilidad de hibridación o acoplamiento, de manera que las muestras puedan ser analizadas secuencialmente utilizando técnicas diferentes. Ejemplos de esta situación son la cromatografía de gases acoplada con la espectrometría de masas (CG-EM), o la cromatografía líquida de alta resolución acoplada con la espectroscopía de infrarrojos por transformadas de Fourier (HPLC-FTIR).

Como inconvenientes de las técnicas instrumentales frente a las químicas hay que tener en cuenta la necesidad, ya mencionada, de un calibrado previo. Los instrumentos son costosos económicamente, tanto por su adquisición como por el mantenimiento, y requieren por parte del usuario un cierto grado de dominio de la técnica, por lo que deben ser manejados por personal experto.

1.5. Criterios para la elección de un método

En la actualidad existe una gran variedad de métodos de análisis químico basados en las técnicas instrumentales. No todos son igualmente aplicables a un problema concreto, ya que sus características deben adaptarse a los requerimientos que se le solicitan; es decir, debe ser apto para el fin previsto.

Para elegir adecuadamente se debe tener en cuenta, en primer lugar, la definición clara y precisa del problema analítico que se desea resolver:

a) Tipo de información requerida: ¿cualitativa, cuantitativa, estructural? No todas las técnicas pueden ofrecer al mismo tiempo cualquier tipo de información.

b) Si se trata de información cuantitativa: ¿se requiere conocer la composición global o la concentración de una especie en particular? Algunas técnicas permiten el análisis simultáneo de varios componentes.

c) Nivel de concentración de los analitos en la muestra: ¿macrocomponentes, microcomponentes o trazas? Esta cuestión condiciona la sensibilidad e incluso la amplitud del intervalo de trabajo.

d) Disponibilidad de la muestra: ¿de qué cantidad se dispone? Este factor puede condicionar la elección del método si se trata de una técnica destructiva.

e) Otros factores relativos a la muestra que se deben tener en cuenta: estado físico, estabilidad, homogeneidad, etc. No todos los métodos son aplicables a cualquier tipo de muestra.

f) Complejidad de la matriz, posible existencia de interferencias. Esta cuestión determina el grado de selectividad exigible al método de análisis.

g) Número de muestras que se van a analizar. Esta cuestión remite a consideraciones económicas y de tiempo: si el número es muy elevado se deben tener en cuenta aquellos métodos que consuman el menor tiempo por muestra posible, aún a costa de invertir más tiempo en el desarrollo, puesta a punto y calibración del método; si son pocas muestras es más adecuado un método sencillo, que implique más tiempo por muestra pero poco o ningún trabajo previo.

h) Grado de exactitud y precisión requeridas.

i) Coste económico asumible.

j) Requisitos legales o normativos que puedan exigir la utilización de métodos oficiales o normalizados.

k) Tiempo disponible para la obtención de resultados.

l) Todos estos requerimientos, que definen el problema analítico, deben ser contrastados con los parámetros de calidad de los métodos analíticos disponibles. La utilización de un método con unas prestaciones muy superiores a las necesarias para satisfacer los requisitos del problema analítico implica generalmente un coste excesivo. Por otro lado, la aplicación de un método con prestaciones menores a las necesarias conduce a una deficiente resolución del problema analítico.

Resumen

El análisis químico tiene como objetivo obtener información sobre la composición de una muestra en términos cualitativos o, más habitualmente, cuantitativos; o bien sobre la estructura de una determinada especie. Los diferentes métodos de análisis se pueden agrupar en dos tipos de técnicas:

a) Las técnicas químicas o clásicas, basadas en el comportamiento del analito cuando se le somete a una reacción química determinada a partir de la cual se puede obtener información sobre la presencia, estructura o concentración del analito en la muestra.

b) Las técnicas instrumentales o fisicoquímicas, basadas en la interacción de los componentes de la muestra con alguna forma de energía (radiación electromagnética, electricidad, calor, campo magnético, etc.), de manera que se estimula la emisión de una señal analítica que mide la variación de algún parámetro fisicoquímico que se puede relacionar con la concentración del analito en la muestra, o bien con su estructura química.

Las técnicas instrumentales, que son el objeto de este libro, se pueden clasificar a su vez en función de la naturaleza del estímulo al que se somete la muestra y de los fenómenos que originan la señal analítica, dando lugar así a técnicas ópticas espectroscópicas y no espectroscópicas, técnicas electroquímicas, magnéticas, térmicas, etc.

A diferencia de las técnicas clásicas, las técnicas instrumentales tienen carácter relativo, es decir, la relación entre la señal analítica y la cantidad o concentración del analito no obedece a leyes estequiométricas de carácter absoluto, sino que se hace necesaria una calibración analítica para conocer con exactitud la relación entre la señal analítica y la concentración del analito.

Los métodos de análisis químico presentan una serie de características, que se clasifican como supremas (exactitud y representatividad), básicas (precisión, sensibilidad, límites de detección y cuantificación, intervalo de trabajo, selectividad y robustez) y complementarias (coste, rapidez y otras), que deben ser tenidas en cuenta para elegir un método de análisis que responda a los requerimientos de un determinado problema analítico.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. La volumetría, la cromatografía o la resonancia magnética nuclear se pueden considerar:
   - ☐ *a)* Procedimientos de análisis.
   - ☐ *b)* Métodos de análisis.
   - ☐ *c)* Técnicas de análisis.

2. La propiedad de un método de análisis de proporcionar una señal analítica en respuesta exclusivamente a la presencia de un analito determinado se denomina:
   - ☐ *a)* Selectividad.
   - ☐ *b)* Exactitud.
   - ☐ *c)* Especificidad.

3. ¿En qué grupo de técnicas se puede encuadrar la electroforesis?:
   - ☐ *a)* Técnicas electroquímicas.
   - ☐ *b)* Técnicas de separación.
   - ☐ *c)* Técnicas espectroscópicas.

4. Una de las principales desventajas de las técnicas instrumentales es que:
   - ☐ *a)* Se necesita una etapa previa de separación de los componentes de la muestra.
   - ☐ *b)* Requieren de un calibrado previo para determinar la relación entre la señal analítica y la concentración de analito.
   - ☐ *c)* Suelen necesitar cantidades de muestra mayores de lo que requieren las técnicas clásicas.

5. La hibridación de técnicas consiste en:
   - ☐ *a)* El acoplamiento en serie de técnicas instrumentales.
   - ☐ *b)* El acoplamiento de una técnica química con una instrumental.
   - ☐ *c)* La conexión de los instrumentos analíticos con equipos informáticos que permiten el control de los mismos y la adquisición y tratamiento de los datos.

6. En el ámbito del análisis químico, las trazas son…:
   - ☐ *a)* Sustancias interferentes presentes en la muestra.
   - ☐ *b)* Componentes de la muestra presentes en una concentración menor del 0,01%.
   - ☐ *c)* Muestras de análisis de tamaño menor de 1 mg.

SOLUCIONES:

1. a b **c**	**3.** a **b** c	**5.** **a** b c
2. a b **c**	**4.** a **b** c	**6.** a **b** c

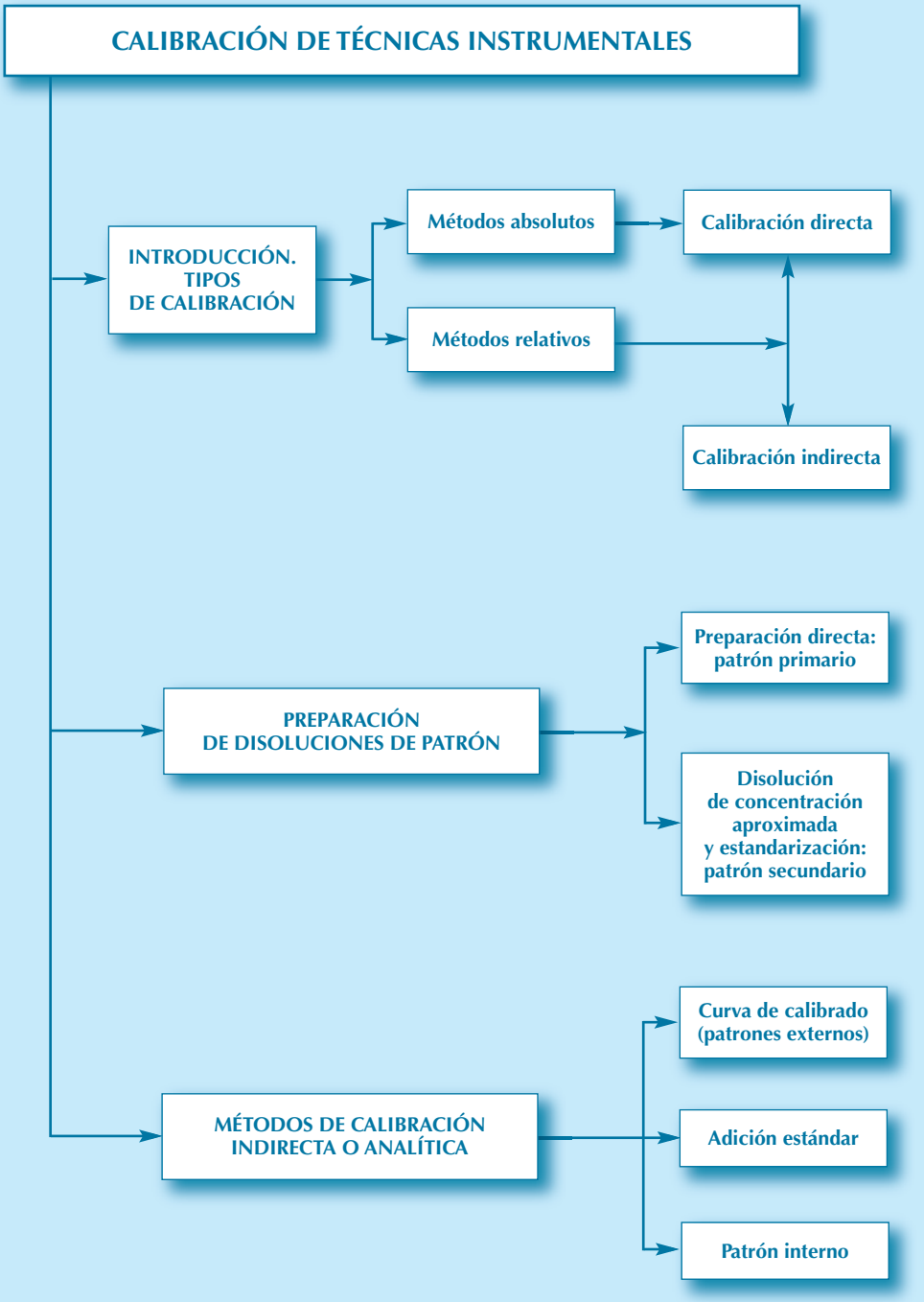
2

Calibración de técnicas instrumentales

Objetivos

1. Resaltar la importancia de la calibración, directa e indirecta, para asegurar la trazabilidad de los resultados analíticos.
2. Aprender la metodología básica que se debe aplicar para la preparación de disoluciones patrón.
3. Conocer las características de los diferentes tipos de calibración analítica: ventajas, inconvenientes y metodología de cada uno de ellos, con objeto de elegir adecuadamente en función del problema analítico.
4. Manejo de las herramientas básicas necesarias para la resolución de supuestos prácticos relativos a la aplicación de las diferentes metodologías de calibrado analítico.

Mapa conceptual del capítulo



Glosario

Ajuste del cero. Ajuste de un sistema de medida para que éste proporcione una indicación nula cuando la magnitud a medir tenga valor cero.

Ajuste de la ganancia, o ajuste de la amplitud de escala. Operación que permite establecer la relación de proporcionalidad entre la señal que capta y mide el detector, y la señal que ofrece el instrumento una vez amplificada y acondicionada.

Extrapolación. Operación que consiste en hallar un dato fuera del intervalo conocido, lo cual produce resultados de mayor incertidumbre que en el caso de la interpolación.

Interpolación. Operación que consiste en hallar un dato dentro de un intervalo en el que se conocen los valores en los extremos.

Monocromador. Dispositivo óptico que descompone una radiación policromática, dispersando las diferentes longitudes de onda que la forman, a partir de las cuales se puede seleccionar una radiación de la longitud de onda deseada.

Muestra. Porción seleccionada de una sustancia o material objeto de estudio, que debe ser representativa y tiene por finalidad ofrecer información sobre una característica determinada de dicha sustancia o material.

Muestra de ensayo. Resultado del proceso de preparación al que se somete la muestra que llega al laboratorio, de la que se toman porciones sobre las que se aplica el proceso de medida.

Patrón primario. Sustancia de alta pureza y composición definida de la que se puede conocer la cantidad directamente por pesada; a partir de esta sustancia se puede obtener una disolución estándar (o patrón) primaria.

Patrón secundario. Sustancia de la que se conoce alguna propiedad por contraste frente a patrones primarios.

2.1. Introducción: métodos de análisis absolutos y relativos

Además de los parámetros de calidad de los métodos analíticos estudiados en el capítulo anterior, existen dos conceptos relacionados, pero que son propios del resultado de una medida, es decir, se trata de propiedades metrológicas: la *trazabilidad* y la *incertidumbre*. Antes de definir estos conceptos es conveniente destacar que un resultado analítico se debe expresar en la forma $M \pm U$, donde M es el resultado de una medida, y U la incertidumbre que acompaña a dicho resultado.

La incertidumbre se concreta en el intervalo ($\pm U$), alrededor del resultado de la medida (M), en el que se espera encontrar el valor real de aquello que se mide y recoge la influencia tanto de los errores sistemáticos como de los errores aleatorios que afectan al método analítico.

La trazabilidad está relacionada con la exactitud, como parámetro de calidad de un método analítico. La exactitud se entiende como el grado de concordancia entre el valor obtenido en la medida de una magnitud y el valor que se considera real. Sin embargo, al aplicar un método de análisis a un problema del cual no se conoce el resultado, no se puede evaluar directamente la exactitud. Para certificar que la estimación realizada es válida tenemos que usar otra propiedad de la medida diferente de la exactitud; se trata de la trazabilidad.

La trazabilidad se define como la propiedad de un resultado de medida por la cual dicho resultado puede relacionarse con una referencia, o patrón de medida, mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de la medida. La trazabilidad de los resultados analíticos se consigue por tanto principalmente mediante la calibración de los instrumentos y del material volumétrico implicados en el proceso analítico, a través de la utilización de patrones adecuados.

Se define la calibración como la operación que permite establecer la relación entre la indicación de un instrumento o sistema de medida, y el valor de la magnitud que se desea medir, mediante el empleo de patrones. Se distingue entre dos tipos de calibración: directa o indirecta.

A) Calibración directa

Esta calibración tiene como objetivo hacer coincidir la lectura del instrumento con el valor de la magnitud característica del patrón empleado. Ambas magnitudes, la medida por el instrumento y la materializada por el patrón, tienen las mismas unidades.

El resultado de esta calibración es la corrección o ajuste de la lectura del instrumento, que se puede expresar en forma de diferencia o en forma de relación:

$$Corrección = x_{patrón} - x_{medida}$$

$$Corrección = x_{patrón} / x_{medida}$$

En cualquier caso la calibración es válida en un intervalo de medida concreto.

Un ejemplo típico de este tipo de calibración se da en el caso de la balanza analítica: se utilizan pesas patrón cuya magnitud característica, la masa, es la misma que indica el instrumento de medida.

B) Calibración indirecta

Como se ha visto en el capítulo anterior, las técnicas instrumentales son, en general, relativas desde el punto de vista de la trazabilidad: se hace necesario conocer la relación entre la señal analítica generada por la muestra en su interacción con el sistema de medida, que suele ser un parámetro fisicoquímico (intensidad de radiación, potencial eléctrico, etc.), y la magnitud que se desea conocer, generalmente la concentración de un analito concreto. Esta relación se pone

de manifiesto mediante una calibración indirecta: la magnitud medida por el instrumento es distinta de la correspondiente al patrón de calibración.

Señal analítica = función (concentración de analito)

Este tipo de calibración se denomina también metodológica o analítica.

Las técnicas analíticas instrumentales precisan de ambos tipos de calibración, pero mientras la calibración directa implica el ajuste del instrumento, en ocasiones por personal especializado, la calibración indirecta es una operación rutinaria en los laboratorios de análisis químico, formando parte del propio método analítico.

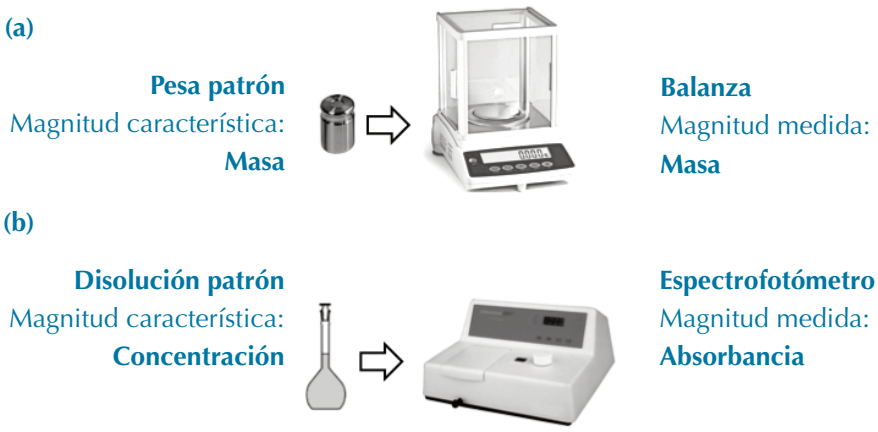


Figura 2.1
Ejemplos de (a) calibración directa y (b) calibración indirecta

No debe confundirse la calibración analítica con el ajuste del sistema de medida, que es el conjunto de operaciones que se deben realizar para que el equipo esté en un estado operativo adecuado para su uso. Algunas de estas operaciones son el ajuste del cero, el ajuste de la ganancia, etc. Ciertos instrumentos incorporan una función de autocalibración, que ejecutan automáticamente, y que incluye algunos de estos ajustes.

Tampoco debe confundirse la calibración con la verificación, que consiste en la comprobación del cumplimiento de unas determinadas especificaciones por parte de un instrumento. Esta verificación se puede realizar mediante el empleo de patrones, muestras conocidas o materiales de referencia, pero a diferencia de la calibración no genera ningún tipo de corrección, función de respuesta del instrumento o estimación de la incertidumbre.

2.2. Preparación de disoluciones patrón

Una calibración metodológica o analítica comienza con la preparación de una serie de disoluciones patrón, de concentración perfectamente conocida.

El primer paso consiste en la preparación de una disolución patrón de alta concentración, a partir de la cual, por dilución, se obtienen las disoluciones patrón que se utilizarán en la calibración. A la disolución de alta concentración se la conoce habitualmente como disolución "madre" o disolución "stock". Se puede preparar siguiendo dos metodologías diferentes:

a) Preparación directa a partir de un reactivo patrón primario, obteniendo así una disolución patrón (o estándar) primario. La concentración de esta disolución se calcula directamente a partir de la pesada del analito patrón sólido (previamente desecado) en balanza analítica, y del volumen de la disolución, ajustado con un matraz aforado. Tanto la balanza como el material volumétrico deben estar calibrados, tratándose en este caso de una calibración directa.

b) Preparación de una disolución de concentración aproximada, que posteriormente se contrasta frente a patrones primarios, generalmente mediante volumetría (operación habitualmente conocida como factorización o estandarización) o gravimetría. Una vez conocida su concentración, esta disolución se considera patrón secundario. Esta opción se elige cuando no se cuenta con un reactivo que cumpla todas las condiciones para ser utilizado como patrón primario, algo por otra parte habitual.

Además de las opciones anteriores, cada vez es más habitual contar con disoluciones patrón comerciales, que se utilizan como disolución madre para la preparación por dilución de los patrones de calibración.

Una vez preparada la disolución patrón madre se deben llevar a cabo las diluciones adecuadas teniendo en cuenta las siguientes consideraciones:

a) Todas las disoluciones deben prepararse con agua destilada o desionizada.

b) No es aconsejable preparar disoluciones con un factor de dilución inferior a 1/50, para evitar así la propagación de errores relativos elevados.

c) En ocasiones no es posible preparar todos los patrones de calibración a partir de una única disolución madre (figura 2.2), por no contar con el material volumétrico necesario como para que las diluciones sean adecuadas. En estos casos se debe preparar una, o incluso dos disoluciones patrón intermedias, utilizándose en este caso cada una de ellas para preparar una parte de los patrones de calibrado (figura 2.3).

d) Se debe preparar un blanco, constituido por una disolución semejante al resto de los patrones, salvo que la concentración de analito es cero. Este blanco se utiliza como referencia para ajustar el cero de la señal del instrumento, y en todo caso debe formar parte de la recta de calibrado.

e) En muchas ocasiones es necesario añadir a las disoluciones patrón de medida algún tipo de reactivo auxiliar: reguladores de pH, reactivos formadores de color, etc.; éstos deben añadirse a las disoluciones de calibración, nunca a la disolución madre o a las posibles disoluciones intermedias que se deban preparar.

f) Los reactivos auxiliares deben estar presentes en la misma concentración, tanto en los patrones como en las muestras de ensayo, por lo que es conveniente utilizar matraces aforados del mismo volumen para todas las disoluciones que se deban preparar, minimizando así la posibilidad de errores.

PARA SABER MÁS

Agua para uso en el laboratorio

La norma UNE-EN ISO 3696, "Agua para uso en análisis de laboratorio. Especificación y métodos de ensayo", establece tres niveles de calidad del agua para su uso en el laboratorio, definidos en función de determinados parámetros fisicoquímicos, como se muestra en el cuadro 2.1.

CUADRO 2.1
Grados de calidad del agua de laboratorio según la norma UNE-EN ISO 3696

Parámetro	Grado 1	Grado 2	Grado 3
pH (25 ºC)	n/a	n/a	5,0-7,5
Conductividad eléctrica máx. (µS/cm a 25 ºC)			5,0
Materia oxidable (oxígeno máx. en mg/L)	n/a		0,4
Absorbancia máx. a 254 nm (l=1cm)	0,001	0,01	–
Residuo máx. tras evaporación a 110 ºC (mg/kg)	n/a	1	2
Contenido de sílice máx. (mg/L)	0,01	0,02	–

n/a: no aplicable

El cuadro 2.2 muestra las características y el proceso de obtención de los diferentes grados de calidad del agua de laboratorio. Los laboratorios docentes suelen estar equipados habitualmente con un destilador o con un desionizador, con lo que se obtiene agua de grado 3. A menos que se especifique lo contrario, es la que se debe utilizar para trabajos analíticos habituales, incluyendo la preparación de disoluciones de reactivos, patrones y muestras de ensayo.

CUADRO 2.2
Características y proceso de obtención de los diferentes grados de calidad para agua de laboratorio

Calidad	Características	Proceso de obtención
Grado 1	Libre de contaminantes disueltos o coloidales, y materia orgánica. Adecuada para los requisitos analíticos más exigentes.	Tratamiento adicional de agua grado 2, por ejemplo mediante ósmosis inversa o intercambio iónico, seguido de filtración con membrana de 0,2 µm o redestilación.
Grado 2	Agua con muy bajo nivel de contaminantes. Adecuada para fines analíticos sensibles y para la determinación de trazas.	Se puede producir mediante destilación múltiple, intercambio iónico u ósmosis inversa, seguido de destilación.
Grado 3	Agua adecuada para la mayoría de trabajos de química de laboratorio y para la preparación de disoluciones de reactivos.	Se puede producir mediante destilación única, intercambio iónico u ósmosis inversa.

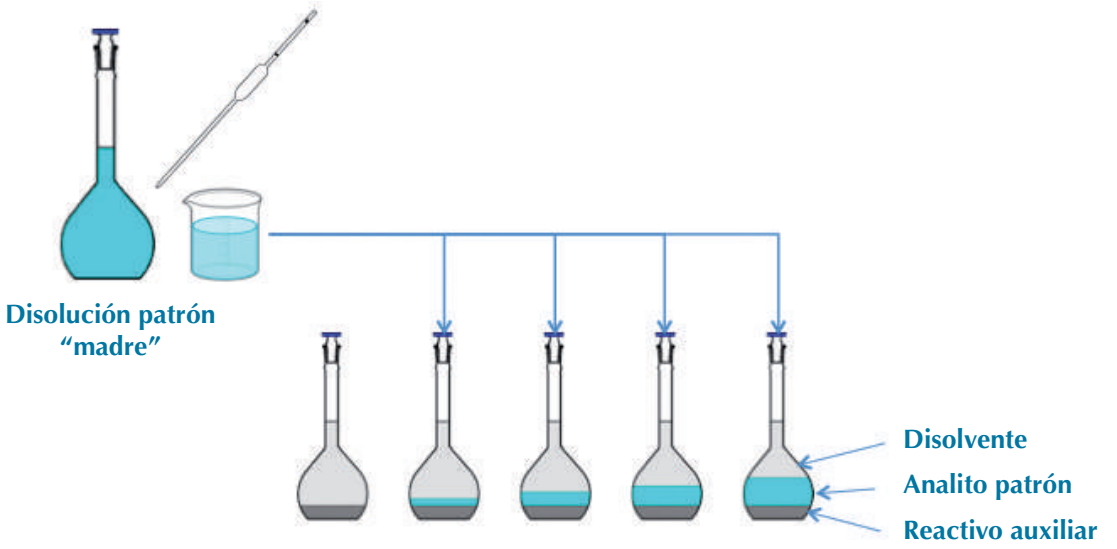


Figura 2.2
Preparación de disoluciones patrón de calibrado a partir de una disolución patrón madre

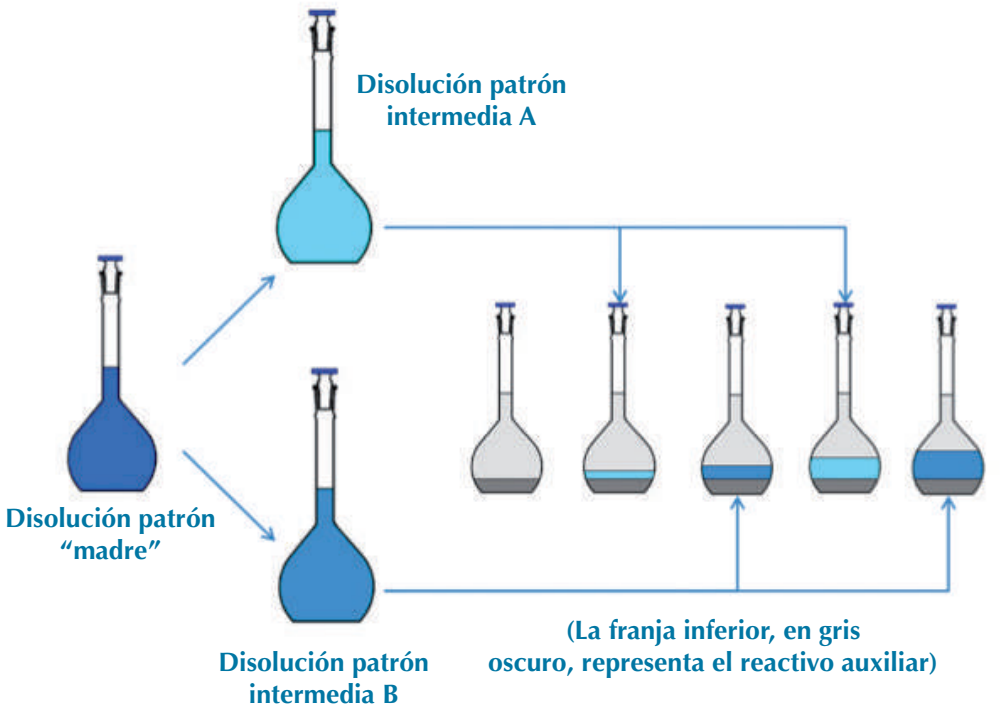


Figura 2.3
Preparación de disoluciones patrón de calibrado a partir de disoluciones patrón intermedias

EJEMPLO 1

Preparación de disoluciones patrón

Se debe preparar una recta de calibrado para la determinación de nitratos por espectroscopía de absorción molecular UV. Para ello se pretende partir de una disolución madre de 1000 mg/L de NO_3^-, de la que se necesita 1 L. A partir de esta disolución se deben preparar patrones de calibración de 1, 5, 10 y 20 mg/L de NO_3^- en matraces aforados de 50 mL.

a) ¿Cómo se debe preparar la disolución madre?

Cantidad de KNO_3 necesaria para 1 L de disolución con 1000 mg/L de NO_3^-:

$$1000\ mg/L \cdot \frac{1\ g}{1000\ mg} \cdot 1\ L \cdot \frac{101{,}11\ g\ KNO_3}{62{,}01\ g\ NO_3^-} = 1{,}6305\ g\ KNO_3$$

Se debe pesar en balanza analítica, y anotar con exactitud, una cantidad lo más cercana posible a la calculada. Una vez disuelta (en agua destilada o desionizada) se trasvasa a un matraz aforado de 1000 mL y se enrasa. Si la cantidad pesada no coincide con la calculada, lo cual es habitual, se debe recalcular la concentración de la disolución preparada.

b) ¿Cómo se deben preparar las disoluciones para la calibración?

Teniendo en cuenta que el volumen final es de 50 mL, los factores de dilución para preparar los patrones deseados a partir de la disolución madre son los siguientes:

1 mg/L NO_3^-:	factor de dilución	=	1/1000
5 mg/L NO_3^-:	"		1/200
10 mg/L NO_3^-:	"		1/100
20 mg/L NO_3^-:	"		1/50

Puesto que los factores de dilución son muy bajos, es conveniente preparar una disolución intermedia: por ejemplo, de concentración 50 mg/L, mediante dilución 1/20 (5 mL de disolución madre en 100 mL de volumen final).

A partir de esta disolución se pueden preparar las disoluciones deseadas con las siguientes diluciones:

1 mg/L NO_3^-:	factor de dilución	=	1/50 (1 mL en 50 mL)
5 mg/L NO_3^-:	"		1/10 (5 mL en 50 mL)
10 mg/L NO_3^-:	"		1/5 (10 mL en 50 mL)
20 mg/L NO_3^-:	"		1/2,5 (20 mL en 50 mL)

2.3. Metodologías de calibrado

Se expondrán a continuación los principales métodos de calibrado analítico que se aplican en el ámbito de las técnicas instrumentales de análisis químico. Cada uno de ellos presenta una serie de características que lo hace idóneo para su utilización en técnicas concretas.

2.3.1. Curva de calibrado mediante patrones externos

Es el método de calibrado más habitual por su sencillez. Se basa en la determinación de la señal analítica de una serie de patrones de calibración de concentración conocida y la representación gráfica de los pares de valores concentración/señal analítica para obtener la curva de calibrado. Estos patrones se preparan de forma independiente a la muestra de ensayo, por lo que reciben el nombre de patrones externos, en contraste con otros métodos en los que el patrón se añade a la muestra.

Se deben tener en cuenta los siguientes aspectos:

a) Los patrones deben cubrir el intervalo completo de trabajo.

b) El número de patrones varía en función del grado de exactitud y precisión requerido. Si los patrones están dentro del intervalo lineal se preparan entre 3 y 5. Si la relación entre la señal analítica y la concentración no es lineal se requiere un mayor número de patrones.

c) Se debe incluir en la curva el valor del blanco.

d) La concentración del analito se representa en el eje x y la señal analítica en el eje y.

e) La utilización de calculadoras científicas, hojas de cálculo e incluso programas específicos para tratamiento y presentación de datos permite fácilmente el cálculo de la ecuación de la curva de calibrado. Habitualmente el intervalo de trabajo se limita a la zona de relación lineal entre señal analítica y concentración, por lo que se obtiene una ecuación de primer grado mediante el método estadístico de regresión lineal por mínimo cuadrados:

$$y = a + b \cdot x$$

a: ordenada en el origen, o intersección con el eje.

b: pendiente.

El parámetro estadístico r^2, denominado coeficiente de correlación, da idea de la bondad del ajuste. En las rectas de calibrado es habitual encontrar valores de r^2 del orden de 0,99 y mayores.

En ocasiones se hace uso del denominado intervalo dinámico, en el cual se obtiene una señal analítica medible aunque la relación con la concentración de analito no sea lineal.

f) La curva se debe siempre representar gráficamente para evitar malas interpretaciones del coeficiente de correlación.

g) La concentración de las muestras se determina por interpolación, por lo que debe ser convenientemente diluida para obtener una medida dentro del intervalo cubierto por

los patrones de calibración. Asimismo, la muestra de ensayo debe tener los reactivos auxiliares en la misma concentración que los patrones.

h) Es aconsejable preparar dos muestras de ensayo con factores de dilución distintos para evitar posibles errores y para facilitar la obtención de una medida dentro del intervalo de trabajo. De no ser así se debe preparar otra muestra de ensayo con un factor de dilución adecuado, y repetir la determinación.

La principal ventaja de este método es su sencillez y rapidez, ya que, una vez construida, la curva de calibrado es válida para un gran número de muestras.

Como inconveniente principal hay que destacar que el efecto de la matriz interfiere de manera crítica: en los patrones de calibrado la matriz está ausente, con lo que es posible que se produzcan errores si existe este efecto de la matriz.

EJEMPLO 2

Aplicación de la metodología de la curva de calibrado con patrones externos a la determinaciónde Fe^{3+}

El Fe^{3+} se puede determinar mediante un método espectrofotométrico en el que se mide la absorbancia del complejo $Fe(SCN)_6^{3-}$ que se forma por adición de un exceso de tiocianato en medio ácido. Para ello se preparan una serie de patrones de Fe^{3+} de concentración entre 0 y 10 mg/L, con una cantidad adecuada de reactivo formador de color (KSCN) y ácido nítrico (HNO_3). La preparación de estos patrones se realiza según el esquema de la figura 2.4.

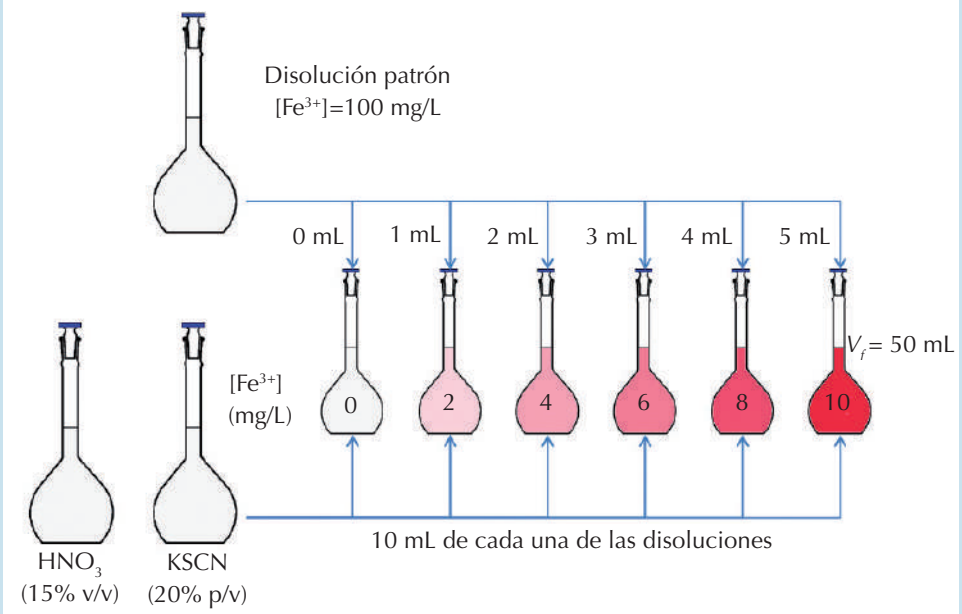


Figura 2.4
Preparación de patrones de Fe^{3+} para la determinación de Fe como complejo $Fe(SCN)_6^{3-}$

Tras la medida de la absorbancia los datos se representan y se determina la ecuación de la recta de calibrado (cuadro 2.3 y figura 2.5).

CUADRO 2.3
Medidas de absorbancia correspondientes a cada uno de los patrones de Fe^{3+}

$[Fe^{3+}]$ (mg/L)	0	2	4	6	8	10
Absorbancia	0,005	0,161	0,317	0,470	0,638	0,819

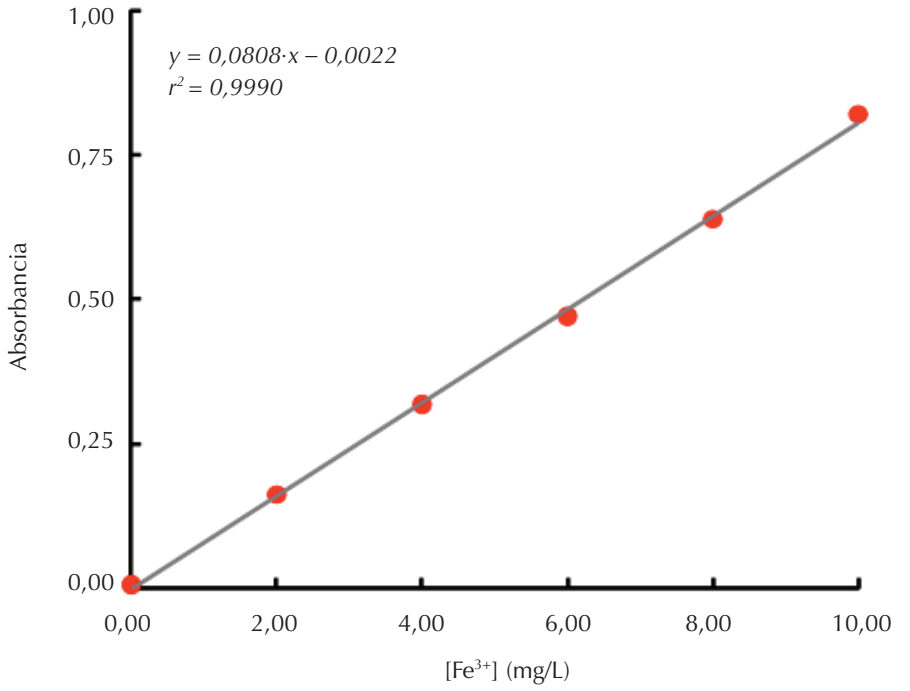


Figura 2.5
Recta de calibrado correspondiente a la determinación de Fe^{3+} como complejo $Fe(SCN)_6^{3-}$

La muestra se trata de la siguiente forma: 10 mL de muestra se vierten en un matraz aforado de 100 mL y se le añaden las mismas cantidades de reactivo formador de color y ácido nítrico que se han añadido a los patrones. La absorbancia medida es de 0,342.

A partir del valor de absorbancia de la muestra así preparada, y mediante la ecuación de la recta de calibrado, se puede calcular la concentración de Fe^{3+} en la muestra de ensayo; y teniendo en cuenta la dilución 1/10 con que ésta se ha preparado, se calcula la concentración de Fe^{3+} en la muestra problema:

$$y_m = 0{,}342 \Rightarrow x_m = 4{,}26 \text{ mg/L de } Fe^{3+} \Rightarrow [Fe^{3+}]_{\text{muestra problema}} = 42{,}6 \text{ mg/L}$$

2.3.2. Adición estándar

La calibración por adición estándar es un método especialmente adecuado para el análisis de muestras en las que existe efecto de la matriz. Consiste en incorporar la matriz a los patrones de calibración.

La forma más habitual de proceder implica la adición de cantidades diferentes de patrón a una serie de alícuotas de la muestra con el mismo volumen. Tras la adición de los reactivos auxiliares se diluyen todos los patrones hasta un volumen determinado. De esta forma cada patrón contará con una cantidad idéntica de muestra, con lo que estará expuesto al efecto de la matriz (figura 2.6).

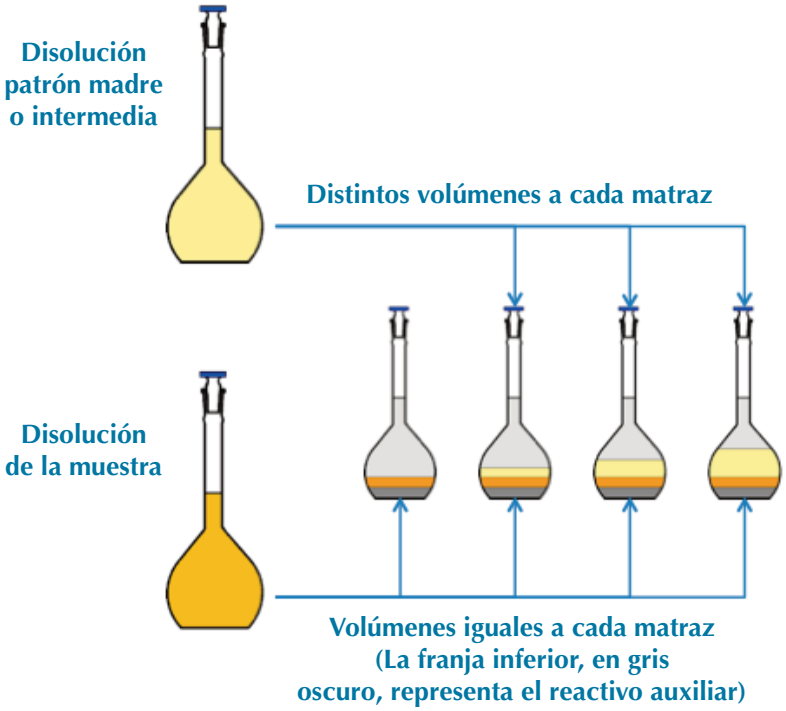

Disolución patrón madre o intermedia
Distintos volúmenes a cada matraz
Disolución de la muestra
Volúmenes iguales a cada matraz
(La franja inferior, en gris oscuro, representa el reactivo auxiliar)

Figura 2.6
Esquema de preparación de patrones por el método de adición estándar

La señal obtenida para cada patrón analítico estará incrementada en una cantidad constante debido a la presencia de la muestra en cada uno de ellos. La concentración de analito en la muestra de ensayo se calcula por extrapolación; gráficamente coincide con el punto de corte de la prolongación de la recta de calibrado con el eje x; aritméticamente viene dado por la relación a/b (figura 2.7).

La ventaja que ofrece este método es que permite contrarrestar el efecto de la matriz. Como inconveniente hay que destacar que se trata de un método más laborioso y más lento que el anterior, ya que cada determinación exige la realización de varias adiciones, por lo que se requiere más cantidad de muestra. Además, se trata de un método de extrapolación, por lo que presenta menor precisión que el anterior.

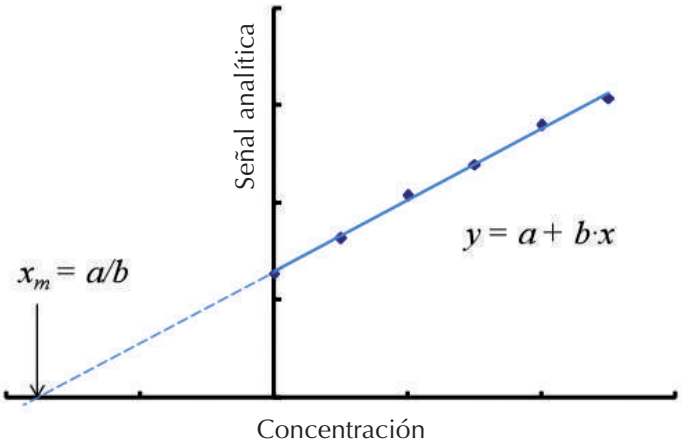


Figura 2.7
Ejemplo de determinación de la concentración de analito mediante el calibrado por adición estándar

EJEMPLO 3

Aplicación de la metodología del calibrado por adición estándar

Se pretende determinar la concentración de calcio en una muestra de vino mediante absorción atómica, para lo cual se realiza una calibración por adición estándar. Se preparan una serie de patrones, en matraces aforados de 50 mL, a partir de una disolución madre de [Ca] = 50 mg/L, de la que se añaden 0, 5, 10 15 y 20 mL a cada uno de los patrones. En todos ellos se añaden 10 mL de muestra. El siguiente cuadro muestra la concentración de Ca (añadido) en los patrones y la absorbancia medida para cada uno:

CUADRO 2.4
Recta de calibrado obtenida mediante adición estándar

[Ca] (mg/L)	0	5	10	15	20
Absorbancia	0,055	0,078	0,101	0,122	0,150

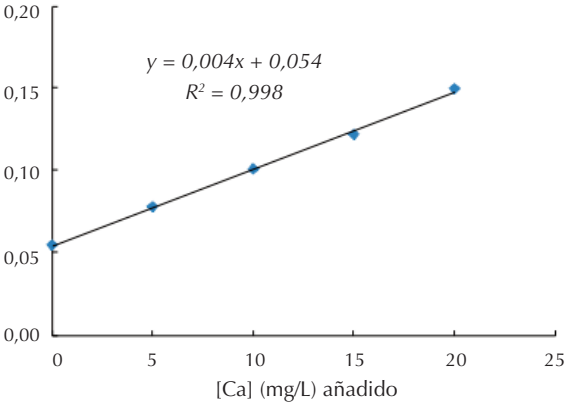


Figura 2.8
Recta de calibrado obtenida mediante adición estándar

A partir de la ecuación de la recta (figura 2.8), y teniendo en cuenta la dilución 1/10 de la muestra al preparar los patrones, se puede calcular la concentración de Ca presente en la muestra problema:

$$[Ca]_m = \frac{a}{b} \cdot \frac{1}{fd} = \frac{0,05440}{0,00468} \cdot \frac{1}{1/10} = 116\ mg/L$$

2.3.3. Patrón interno

Este método de calibrado se aplica cuando la señal analítica depende de factores sometidos a cierto grado de variabilidad no controlable (parámetros operativos poco reproducibles). Se puede poner en práctica en dos modalidades diferentes:

a) El método más habitual consiste en la adición, tanto a patrones como a muestras, de una cantidad conocida de un compuesto, el patrón interno (PI), que no debe estar presente en ninguna de las muestras que se vayan a analizar. Generalmente la concentración del PI se mantiene constante en las muestras de ensayo y en los patrones de calibración (figura 2.9).

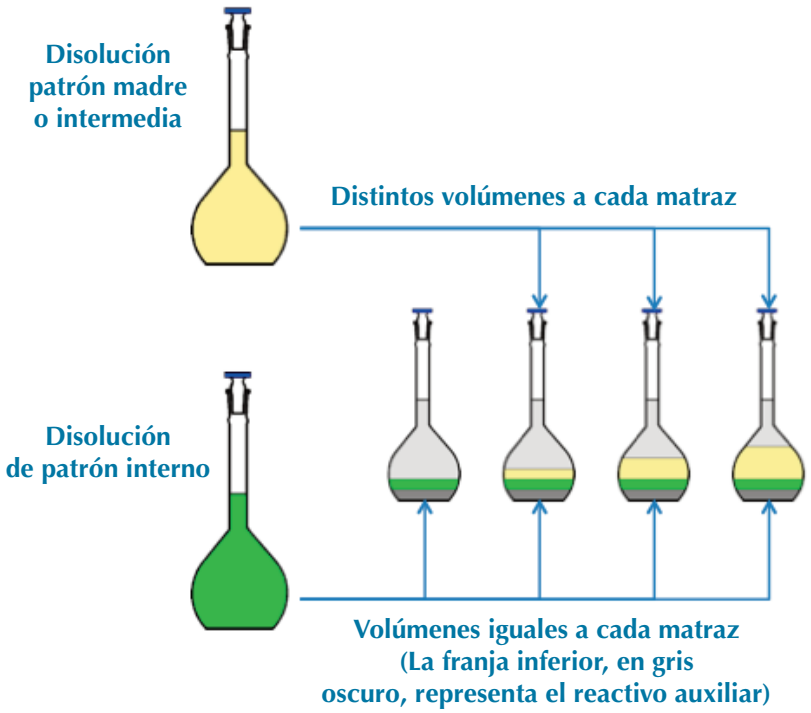

Disolución patrón madre o intermedia
Distintos volúmenes a cada matraz
Disolución de patrón interno
Volúmenes iguales a cada matraz (La franja inferior, en gris oscuro, representa el reactivo auxiliar)

Figura 2.9
Esquema de preparación de los patrones de calibración mediante el método de patrón interno

b) La segunda variante consiste en utilizar como PI un compuesto que ya estuviera presente en la muestra, en cuyo caso debe poder ser medido con exactitud; o bien que se trate de un constituyente principal de muestras y patrones, presente en cantidad suficiente de tal modo que se pueda suponer que su concentración es la misma en todos los casos.

En ambos casos el PI debe presentar un comportamiento análogo al del analito y no debe interferir de manera alguna en el proceso analítico.

Una vez que se mide la señal analítica correspondiente al analito patrón y al patrón interno se construye la curva de calibrado representando la relación de ambas señales frente a la relación de concentraciones entre el analito patrón y el patrón interno, para cada una de las disoluciones patrón.

Puesto que el PI también está presente en las muestras de ensayo (añadido o de manera natural) se miden las señales correspondientes al analito y al PI y a partir de su relación, y por interpolación en la curva de calibrado construida, se calcula la concentración de analito en la muestra.

Este método de calibrado proporciona resultados de elevada exactitud y precisión, ya que aunque las señales del analito y del patrón interno se vean afectadas por factores de variabilidad no controlables que den lugar a errores aleatorios o sistemáticos, si el comportamiento de ambas sustancias es similar a lo largo del proceso analítico, ambas señales fluctuarán de la misma forma, de manera que la relación entre ambas no se verá afectada. Se emplea principalmente en cromatografía de gases o en fotometría de llama (espectroscopía de emisión atómica con llama); un ejemplo concreto, correspondiente a esta última técnica, es la determinación de sodio utilizando litio como patrón interno.

La principal dificultad de este método es la de disponer de una sustancia adecuada que sirva como patrón interno. Se trata además de un método más laborioso que la calibración con patrones externos.

EJEMPLO 4

Aplicación de la metodología de la calibración con patrón interno

En la determinación de Na y K por fotometría de llama es habitual la utilización de Li como patrón interno para compensar las variaciones que la fluctuación de la llama puede provocar en las señales de emisión.

En el siguiente cuadro se muestra la concentración de Na (analito patrón externo) y Li (patrón interno) en una serie de disoluciones patrón, así como las intensidades de emisión obtenidas y la relación de concentraciones y señales:

CUADRO 2.5
Recta de calibrado obtenida mediante adición estándar

[Na] (mg/L)	[Li] (mg/L)	[Na]/[Li]	S(Na)	S_{Li}	S_{Na}/S_{Li}
0	2	0	0,050	1,410	0,035
2	2	1	1,260	1,160	1,086
5	2	2.5	4,650	1,510	3,079
10	2	5	8,350	1,380	6,051

En la gráfica de la figura 2.10 se pueden ver las rectas de calibrado con patrón externo y con patrón interno. En este último caso se consigue un mayor grado de ajuste, mientras que en el primero se refleja la variabilidad de las condiciones de análisis dando lugar a un menor coeficiente de correlación, con lo que los resultados que se obtuvieran a partir de esta recta de calibrado presentarían un mayor grado de incertidumbre.

Una muestra de ensayo se preparó de la siguiente forma: se pipetearon 10 mL de muestra en un matraz de 100 mL, se añadió el volumen necesario de disolución de patrón interno para obtener la misma concentración de Li que en las disoluciones patrón (2 mg/L) y se enrasó el matraz con agua destilada. Las intensidades de emisión para esta muestra de ensayo fueron: S(Na) = 3,255 y S(Li) = 1,210. A partir de la relación de señales S(Na)/S(Li) y mediante la recta de calibrado, se puede determinar la concentración de Na en la muestra de ensayo:

$$\frac{S(Na)}{S(Li)} = \frac{3,255}{1,210} = 2,690 \Rightarrow \left(\frac{[Na]}{[Li]}\right)_{m.ensayo} = 2,230 \Rightarrow [Na]_{m.ensayo} = 4,460\ mg/L$$

Teniendo en cuenta el factor de dilución con el que se ha preparado la muestra de ensayo (10 mL de muestra en 100 mL de muestra de ensayo), la concentración de Na en la muestra problema será de 44,60 mg/L.

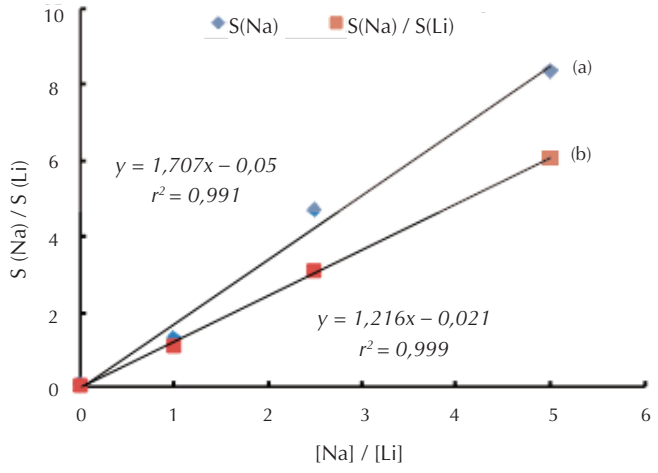


Figura 2.10
Rectas de calibrado obtenidas mediante (a) patrón externo y (b) patrón interno

Resumen

Las técnicas instrumentales son la base de métodos de análisis químico de carácter relativo: la relación entre la señal analítica y la concentración de analito es de carácter empírico, y se debe establecer mediante una calibración indirecta, analítica o metodológica, en la que se mide la señal que proporcionan varias disoluciones patrón.

Existen varias metodologías para llevar a cabo esta calibración analítica:

- *Patrón externo:* es la metodología más rápida y sencilla, pero origina resultados con alto grado de incertidumbre cuando existe efecto de la matriz, o en el caso de que la señal analítica sea afectada por parámetros operativos poco reproducibles a lo largo del proceso de medida de patrones y muestras.
- *Adición estándar:* minimiza el efecto de la matriz, pero resulta más laboriosa y lenta, ya que implica la preparación de varios patrones para poder analizar una única muestra.
- *Patrón interno:* minimiza la variabilidad provocada por factores no controlables, pero no siempre se puede encontrar un patrón interno adecuado para cada método de análisis y para cada muestra.



Ejercicios propuestos

1. Calcula la concentración de los patrones de Ag preparados de la siguiente forma:
   - Disolución madre: se pesan 636,9 mg de $AgNO_3$ de calidad patrón analítico y se disuelven en 500 mL de agua desionizada.
   - Disolución patrón intermedia: se toman 25 mL de la disolución madre y se llevan a 500 mL.
   - Disoluciones patrón de ensayo: a partir de la disolución intermedia se toman los siguientes volúmenes y se llevan a 50 mL con agua desionizada: 1, 2, 5, 10 y 15 mL.

   Se prepara una curva de calibrado con estos patrones, obteniendo la siguiente ecuación:

   $$y = 0{,}0374 \cdot x + 0{,}0053$$

   Se analiza una muestra líquida de la que se toman 5 mL que tras el tratamiento adecuado se llevan a 25 mL. La absorbancia de esta muestra de análisis es de 0,435.

   a) Calcula la concentración de cada una de las disoluciones preparadas.

   b) Calcula la concentración de la muestra problema.

2. El dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH) es una coencima implicada en procesos de oxidación-reducción. La espectroscopía de fluorescencia resulta una técnica muy adecuada para su determinación. Para ello se han preparado diversas disoluciones patrón de NADH, que proporcionan las siguientes intensidades de fluorescencia:

[NADH] (µmol/L)	0,00	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
$I_{fluorescencia}$	0,00	4,51	8,92	13,18	17,85	22,21

   a) Representa la curva de calibrado y calcula la ecuación y el coeficiente de regresión.

   b) Determina la concentración de NADH en una muestra problema que proporciona una intensidad de fluorescencia de 5,02.

3. Se pretende determinar la concentración de un determinado plaguicida organoclorado (POC) en una muestra de agua mediante análisis cromatográfico. La calibración se realiza con un patrón interno (PI) que se añade en la misma concentración a patrones (P0 a P4) y muestra: 2,5 µg/L.

   La siguiente tabla muestra las concentraciones de los patrones así como la señal analítica (altura de pico) correspondiente a patrones y muestra:

	P0	P1	P2	P3	P4	Muestra
[POC] (µg/L)	0,0	2,5	5,0	7,5	10,0	¿?
Alt.pico (POC)	10	3650	6154	6857	10952	4254
Alt.pico (PI)	5050	5955	5322	4150	4951	5412

   Calcula el contenido de plaguicida organoclorado en la muestra analizada.

4. Se pretende determinar por absorción atómica el contenido en Cr de un agua residual proveniente de una industria de curtido de pieles. Para ello se pipetean 10 mL de la muestra en varios matraces aforados de 50 mL y se añade a cada uno de ellos un volumen diferente de disolución patrón de Cr de concentración 15,2 mg/L. El volumen añadido en cada caso y la absorbancia obtenida son los siguientes:

Vol. de patrón (mL)	0,0	5,0	10,0	20,0
Absorbancia	0,178	0,230	0,284	0,361

   Determina la concentración de Cr en la muestra.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. La trazabilidad se consigue:
   - ☐ *a)* Mediante la calibración directa e indirecta de instrumentos y métodos de análisis.
   - ☐ *b)* Mediante la preparación adecuada de la muestra.
   - ☐ *c)* Mediante el ajuste de los instrumentos y la verificación de las medidas.

2. Al aplicar un método de análisis mediante calibración con patrones externos, la señal que proporciona la muestra queda por encima del límite superior del intervalo de trabajo. En ese caso, se debe:
   - ☐ *a)* Incorporar patrones de mayor concentración a la recta de calibrado para cubrir un mayor intervalo de trabajo.
   - ☐ *b)* Diluir la muestra de ensayo que ha quedado por encima del límite superior del intervalo de trabajo.
   - ☐ *c)* Preparar una nueva muestra de ensayo a partir de una dilución de la muestra.

3. ¿Cuál de estas características corresponde a la calibración con patrón interno?:
   - ☐ *a)* Se aplica cuando no es fácil encontrar un patrón externo adecuado para la muestra que se pretende analizar.
   - ☐ *b)* Precisa de la adición de muestra, en cantidad constante, a disoluciones patrón de diferente concentración.
   - ☐ *c)* Proporciona resultados de elevada exactitud y precisión, ya que compensa el efecto de factores no controlados.

4. ¿Cuál de estas características corresponde a la calibración con adición estándar?:
   - ☐ *a)* Precisa de la adición de un patrón en concentración constante, a varias disoluciones de la muestra de diferente concentración.
   - ☐ *b)* Presenta menos precisión que la curva de calibrado con patrones externos porque la determinación se realiza por extrapolación.
   - ☐ *c)* Presenta menos precisión, por lo que sólo se aplica cuando existen factores de variabilidad no controlados.

5. La calibración indirecta consiste en:
   - ☐ *a)* Asegurar la trazabilidad del patrón utilizado en una determinación contrastándolo frente a un patrón de calidad metrológica superior.
   - ☐ *b)* Establecer la relación entre la señal analítica que proporciona un instrumento y la concentración de analito.
   - ☐ *c)* Verificar que la calibración directa se ha realizado correctamente y que el instrumento está en un estado adecuado para su uso.

SOLUCIONES:

1. **a** b c
2. a b **c**
3. a b **c**
4. a **b** c
5. a **b** c

Parte II

Técnicas electroquímicas

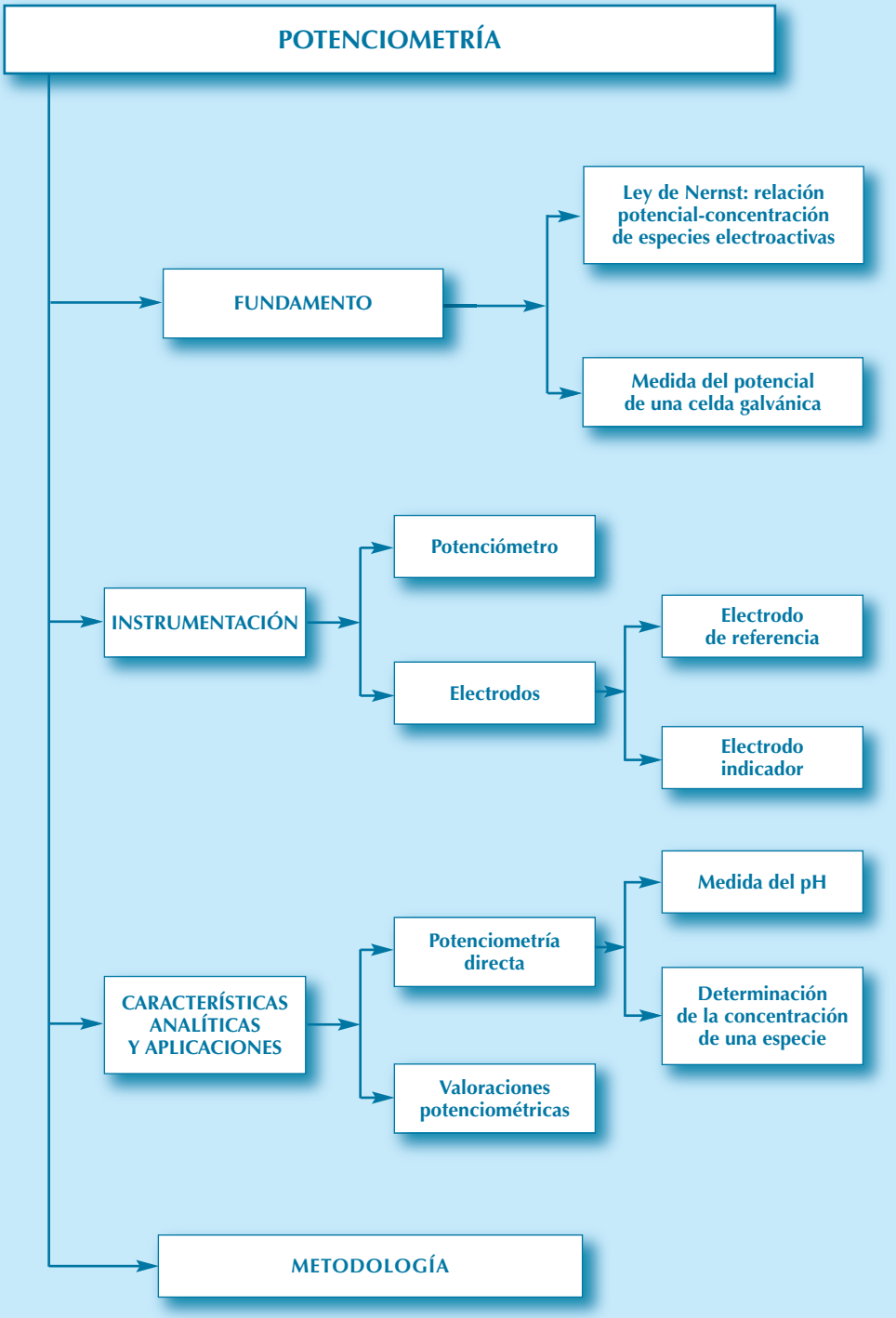
3

Potenciometría

Objetivos

1. Comprender los fundamentos básicos de la potenciometría y las características analíticas de la técnica.
2. Aprender el manejo de un potenciómetro.
3. Estudiar las características de los diversos electrodos que se emplean, y su idoneidad para cada aplicación sabiendo elegir el adecuado en cada caso.
4. Aprender a medir el pH y a determinar la concentración de especies por potenciometría.
5. Determinar el punto final de valoraciones potenciométricas.

Mapa conceptual del capítulo



Glosario

Actividad. Medida de la concentración efectiva de soluto en disoluciones no ideales, que difieren de la situación ideal que se daría si el soluto estuviera en agua pura. Esa divergencia es debida a las interacciones entre los iones presentes. Está relacionada directamente con la concentración por una constante llamada coeficiente de actividad: $a_x = \gamma \cdot [x]$. Normalmente se trabaja en condiciones donde el coeficiente de actividad es cercano o igual a uno.

Agente oxidante. Sustancia que oxida a otra, es decir, quita electrones a otra, reduciéndose.

Agente reductor. Sustancia que reduce a otra, es decir, le cede electrones, oxidándose.

Calomel. Pasta resultante de mezclar Hg^0 con dicloruro de dimercurio y humedeciendo el conjunto con solución de cloruro de potasio.

Disolución tampón. Disolución acuosa compuesta por una mezcla de ácidos fuertes y bases débiles o de bases fuertes con ácidos débiles, dando valores fijos de pH.

Electrolisis. Proceso que separa los elementos de un compuesto por medio de la electricidad.

Especie electroactiva. Especie con capacidad para dar o recibir electrones.

Oxidación. Pérdida de electrones (o aumento en el número de oxidación).

Platino platinado. Platino de superficie rugosa que presenta un área superficial muy alta, con buenas propiedades catalíticas y muy empleado en electroquímica para confeccionar electrodos.

Reducción. Ganancia de electrones (o disminución en el número de oxidación).

Teflón. Politetrafluoroetileno (PTFE). Se trata de un polímero, con alta resistencia al calor y a los agentes químicos.

3.1. Fundamento

Las técnicas electroquímicas de análisis se basan en las propiedades eléctricas que poseen los analitos cuando se encuentran en disolución. En estas técnicas se hace formar parte a la muestra de un circuito eléctrico y se mide la variación de alguno de los parámetros básicos: potencial eléctrico, intensidad de corriente y resistencia.

- La *diferencia de potencial eléctrico*, E, es el trabajo necesario para que una carga eléctrica se mueva entre dos puntos. Su unidad en el SI es el voltio (V).
- La *corriente* o intensidad de corriente, I, es la cantidad de carga eléctrica, q, que circula a través de un circuito en la unidad de tiempo. Su unidad en el SI es el amperio (A).

- El circuito en sí ofrece cierta *resistencia* al paso de la corriente eléctrica; esa resistencia se representa por R y su unidad de medida es el ohmio (Ω).

Estas tres magnitudes están relacionadas por la ley de Ohm: la corriente que circula por un circuito es directamente proporcional al voltaje e inversamente proporcional a la resistencia del circuito.

$$E = I \cdot R$$

Según el parámetro medido se distinguen varias técnicas electroquímicas:

- *Potenciometría:* se mide potencial eléctrico a intensidad nula.
- *Conductimetría:* se mide la conductancia (parámetro inverso a la resistencia eléctrica).
- *Electrogravimetría:* se mide la masa de la fase sólida separada de la disolución por medio de una reacción electrolítica.
- *Coulombimetría:* se mide la cantidad de carga eléctrica necesaria para que tenga lugar una determinada reacción electrolítica.
- *Voltamperometría:* se mide la intensidad de corriente en función del potencial aplicado a un electrodo de trabajo en contacto con una disolución de la muestra.

Estas técnicas se pueden clasificar de la siguiente manera:

a) Sin transformación de la especie electroactiva, o de corriente nula; en estas técnicas no se produce paso de corriente a través de la muestra, por lo que no se produce electrolisis. En este grupo están la potenciometría y la conductimetría.

b) Electrolisis total; en estas técnicas tiene lugar la transformación cuantitativa de todo el analito presente en la muestra, por medio de una reacción electrolítica. En este grupo están la electrogravimetría y la coulombimetría.

c) Se transforma parte de la especie electroactiva; tiene lugar la electrolisis parcial del analito, concretamente en la denominada capa de difusión alrededor del electrodo de trabajo. La voltamperometría engloba a un conjunto de técnicas electroanalíticas que se encuadran en este grupo.

El resto de este capítulo se centrará en la potenciometría, mientras que las otras técnicas se analizarán en capítulos posteriores.

Una reacción de oxidación-reducción o redox es aquella en la que se transfieren electrones de un reactivo a otro. Si se hacen circular los electrones procedentes de una reacción redox a través de un circuito eléctrico, se puede obtener información sobre dicha reacción y sus componentes al medir la corriente y el potencial del circuito. La potenciometría consiste básicamente en una medida del potencial, que va a estar directamente relacionada con la concentración de la especie que se vaya a determinar, como se verá a continuación, tras una breve introducción a la electroquímica.

Las reacciones redox pueden producirse cuando entran en contacto el oxidante y el reductor, dentro de un mismo recipiente, pero también pueden darse en lo que se denomina una celda electroquímica, donde el oxidante y el reductor se hallan separados físicamente entre sí.

Una celda electroquímica consta de dos semiceldas, formada cada una de ellas por un conductor, denominado *electrodo*, sumergido en una disolución electrolítica. Ambos electrodos están

unidos a un circuito eléctrico, y las disoluciones comunicadas por un puente salino. En uno de los electrodos tendrá lugar la reducción, y en otro la oxidación denominándose, respectivamente, *cátodo* y *ánodo*.

Las celdas electroquímicas pueden ser de dos tipos: galvánicas o electrolíticas.

Las *celdas galvánicas* (también llamadas voltaicas) almacenan energía eléctrica. En éstas, las reacciones en los electrodos ocurren espontáneamente y producen un flujo de electrones desde el ánodo al cátodo (a través del circuito externo conductor). Dicho flujo de electrones genera un potencial eléctrico que puede ser medido experimentalmente. Las celdas galvánicas constituyen la base de las pilas que suministran energía eléctrica a muchos aparatos que se usan en la vida cotidiana (figuras 3.1.a y 3.2).

En las *celdas electrolíticas,* por el contrario, la reacción redox no es espontánea y debe suministrarse energía para que tenga lugar. Al suministrar energía se impone una corriente eléctrica y se fuerza a que la reacción redox ocurra en el sentido fijado por esta corriente (figura 3.1.b).

El puente salino es un tubo en forma de "U" lleno de una dispersión iónica (por ejemplo, cloruro de potasio, nitrato de potasio, u otro electrolito que no influya en la reacción de la celda), taponado en sus extremos por un material poroso que permite la libre difusión de iones. La función del puente salino es cerrar el circuito, al permitir el paso de cationes y aniones a los recipientes. Así se evita la acumulación de carga en cualquiera de las dos semiceldas. Los aniones del electrolito fluyen hacia el ánodo y los cationes hacia el cátodo.

Para describir una celda electroquímica se usa una notación esquemática abreviada. En general, una pila se puede representar como sigue:

$$Ánodo \,|\, Electrolito\ anódico \,||\, Electrolito\ catódico \,|\, Cátodo$$

Por convenio se usa una línea vertical (|) para indicar un cambio de fase o interfase, y una doble línea vertical (||) representa un puente salino (dos cambios de fases). Cuando hay algún electrodo inerte, se coloca su símbolo entre paréntesis junto a la especie reducida de la reacción que ocurre en él.

$$(Pt)\,|\,Cu^{+}\,,\ Cu^{2+}\,||\,Fe^{3+}\,,\ Fe^{2+}\,|\,(Pt)$$

De existir un gas se coloca a continuación del mismo su presión, al igual que hay que indicar al lado de cada ion su concentración si fuera distinta a 1 M. Ambos datos deben escribirse entre paréntesis.

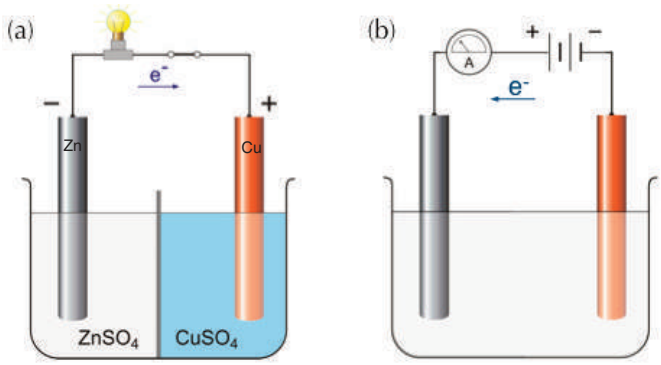


Figura 3.1
(a) Celda galvánica.
(b) Celda electroquímica
(*Fuente:* E. Generali.
http://glossary.periodni.com/)

PARA SABER MÁS

Ejemplificación de la función del puente salino

Consideremos una pila formada por un electrodo de Zn sumergido en una disolución de $ZnSO_4$ y un electrodo de Cu sumergido en una disolución de $CuSO_4$ (pila Daniell, figura 3.2): los iones Zn^{2+} se liberan en el electrodo de Zn y pasan a la disolución de $ZnSO_4$, por lo que esa disolución se va cargando positivamente. En el transcurso de la reacción, cada vez sería más difícil el paso de iones a dicha disolución porque serían repelidos por la carga de la disolución.

Por otra parte los electrones liberados por el electrodo de Zn llegan al electrodo de Cu, donde son captados por los iones Cu^{2+} que abandonan la disolución al reducirse y depositarse en el electrodo. Por tanto esta disolución queda cargada negativamente. La disolución de $CuSO_4$ se iría cargando progresivamente con carga negativa, y ello dificultaría la reducción del Cu^{2+} según avanza la reacción.

Si el puente salino contiene cloruro de potasio (K^+ y Cl^-), los iones Cl^- se desplazarán hacia la semicelda del ánodo, contrarrestando la acumulación de carga positiva por el aumento de la concentración de iones Zn^{2+}, y a la semicelda del cátodo, llegarán los iones K^+, compensando la desaparición de los iones Cu^{2+}. Los electrones circulan por el circuito exterior y los iones por el puente salino.

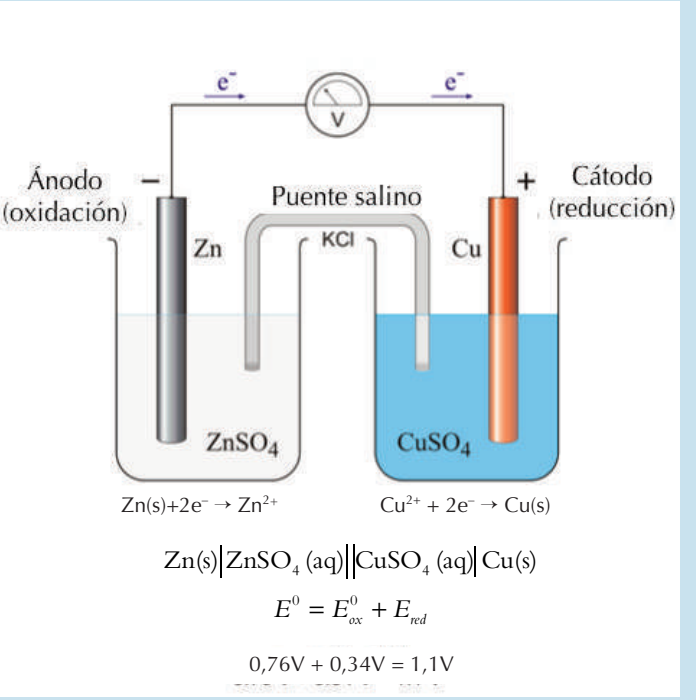


Figura 3.2. Celda galvánica donde se muestran los procesos que tienen lugar en el ánodo y en el cátodo, la notación de la celda y el potencial de celda (*Fuente:* E. Generali. http://glossary.periodni.com/)

Una reacción redox puede descomponerse en dos semirreacciones, la de reducción y la de oxidación, cada una de las cuales tiene un potencial de electrodo determinado.

El potencial de la reacción (o el potencial de celda) puede estimarse como la suma de ambos potenciales. El potencial da idea de la tendencia de la reacción a llevarse a cabo. Cuando es positivo, significa que la reacción tiene lugar espontáneamente tal y como está escrita.

Como ejemplo, se puede considerar la reacción redox de la pila que se representa en la figura 3.2:

$$Zn + Cu^{2+} \rightleftharpoons Zn^{2+} + Cu$$

Esta reacción puede descomponerse en:

- Reacción de oxidación: $Zn \rightarrow Zn^{2+} + 2e^{-}$
- Reacción de reducción: $Cu^{2+} + 2e^{-} \rightarrow Cu$

Los potenciales de electrodo son valores relativos, se determinan frente a un sistema de referencia (usualmente, H^+/H_2) y suelen tabularse como potenciales normales de reducción (potencial de reducción a 25 °C cuando la actividad de todas las especies electroactivas sea la unidad). De esta manera, el potencial normal de una reacción puede determinarse como la diferencia entre los potenciales normales de reducción de los procesos que ocurren en el cátodo y en el ánodo:

$$E^{0} = E_{red,\ cátodo} - E_{red,\ ánodo}$$

CUADRO 3.1
Algunos potenciales normales de reducción a 25 °C

Semirreacción	E^0 (V)
$Li^+ + e^- \rightarrow Li(s)$	–3,05
$Ca^{2+} + 2\ e^- \rightarrow Ca(s)$	–2,87
$Zn^{2+} + 2\ e^- \rightarrow Zn(s)$	–0,76
$Fe^{2+} + 2\ e^- \rightarrow Fe(s)$	–0,44
$Cd^{2+} + 2\ e^- \rightarrow Cd(s)$	–0,40
$2\ H^+ + 2\ e^- \rightarrow H_2$	0,00
$Cu^{2+} + e^- \rightarrow Cu^+$	+0,16
$Cu^{2+} + 2\ e^- \rightarrow Cu(s)$	+0,34
$Fe^{3+} + e^- \rightarrow Fe^{2+}$	+0,77
$Ag^+ + e^- \rightarrow Ag(s)$	+0,80
$Cl_2(g) + 2\ e^- \rightarrow 2\ Cl^-$	+1,36

EJEMPLO 1

Escribir las semirreacciones, indicando en qué electrodo se produce cada una de ellas, y la reacción neta de la pila Zn(s) | Zn^{2+} | | Cd^{2+} | Cd(s). Calcular además el potencial normal de la pila, haciendo uso de los datos del cuadro 3.1.

La primera parte de la pila describe el proceso que se produce en el ánodo: la oxidación. La semirreacción que tiene lugar es:

$$Zn(s) \rightarrow Zn^{2+} + 2e^-$$

La segunda parte de la pila corresponde al cátodo, donde tiene lugar la reducción:

$$Cd^{2+} + 2e^- \rightarrow Cd(s)$$

La reacción neta de la pila será la suma de las dos semirreacciones:

$$Zn(s) + Cd^{2+} \leftrightarrows Zn^{2+} + Cd(s)$$

Y el potencial normal de la pila (véase cuadro 3.1) será igual a:

$$E^0 = E_{Cd^{2+}/Cd} - E_{Zn^{2+}/Zn}$$
$$E = -0,40 - (-0,76) = 0,36 \text{ voltios}$$

Cuando las actividades de las especies electroactivas no son iguales a 1M, los potenciales ya no son los potenciales normales, y se calculan recurriendo a la Ley de Nernst:

Por ejemplo, para la semirreacción $aA + ne^- \rightarrow bB$, la ley de Nernst es:

$$E = E^0 - \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \cdot \ln \frac{[B]^b}{[A]^a}$$

en donde:

E^0 es el potencial normal de la reacción.

R es 8,31 J·mol^{-1}·K^{-1}.

T es la temperatura en grados Kelvin.

n es el número de electrones intercambiados.

F es la constante de Faraday: 96487 C/mol.

Estrictamente, los términos entre corchetes se refieren a la actividad. En la práctica, la actividad se sustituye por la concentración. Cuando las especies se corresponden con un líquido puro, un sólido puro o un disolvente, su actividad es igual a la unidad y no aparece en la ecuación.

Sustituyendo los valores numéricos, transformando el logaritmo a decimal y considerando una temperatura de 25 ºC, se tiene esta otra expresión de la ley de Nernst:

$$E = E^0 - \frac{0,059}{n} \cdot \log \frac{[B]^b}{[A]^a}$$

EJEMPLO 2

Calcular el potencial del electrodo de la siguiente semipila:

$$Ag(s) \mid Ag^{+}\ (0{,}01M)$$

La reacción que tiene lugar es:

$$Ag(s) \rightarrow Ag^{+} + e^{-}$$

Aplicando la ley de Nernst:

$$E = -0{,}80 - \frac{0{,}059}{1} \cdot \log\ 0{,}01 = -0{,}68\ V$$

La potenciometría se basa en la aplicación de la ley de Nernst, según la cual el potencial de un electrodo varía con la concentración de una o más de las especies presentes en la disolución con la que está en contacto, por lo que a partir de la medida del potencial se puede obtener la concentración de una determinada sustancia.

La señal analítica que se obtiene en potenciometría es una diferencia de potencial entre dos electrodos, uno de los cuales debe ser sensible a la concentración de analito mientras el otro electrodo deberá presentar un potencial constante, independiente de la composición de la disolución en la que se encuentre. El electrodo que cumple esta condición se conoce como *electrodo de referencia*. Cualquier cambio en el potencial del sistema de electrodos se deberá a la contribución del otro electrodo, llamado *electrodo indicador,* sensible a los cambios en la composición de la disolución.

3.2. Instrumentación

El equipo necesario para llevar a cabo una potenciometría se compone de un electrodo de referencia, un electrodo indicador y un dispositivo para medir el potencial, denominado potenciómetro (figura 3.3). Estos elementos se analizan a continuación.

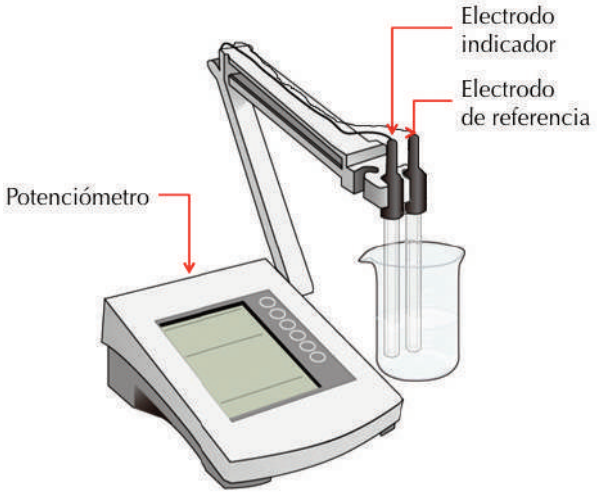


Figura 3.3
Instrumentación básica para potenciometría

3.2.1. El electrodo de referencia

El electrodo de referencia proporciona la misma medida de potencial independientemente de la naturaleza de la disolución en que se introduzca, y del sentido en que tenga lugar la reacción. Genera por tanto un potencial constante y reproducible. Su función es completar el circuito de medida permitiendo el contacto eléctrico entre el electrodo indicador, la disolución y el dispositivo de lectura, de modo que las cuatro partes formen un circuito eléctrico.

El electrodo de referencia debe cumplir los siguientes requisitos:

- Potencial conocido con exactitud.
- Potencial constante e independiente de la composición de la disolución del analito.
- Resistente, fácil de usar, reversible y reproducible.

Los electrodos de referencia están constituidos por un conductor metálico en contacto con una sal poco soluble del metal del que están formados, y una disolución de composición constante y alta concentración llamada electrolito de referencia. Este electrolito debe estar en contacto con la disolución que se quiere analizar. El contacto se realiza a través del diafragma, que es una pared porosa que permite una unión líquida, produciéndose un pequeño y constante flujo del electrolito de referencia a la disolución. La distinta movilidad de los aniones y cationes del electrolito de referencia produce una pequeña diferencia de potencial llamada "potencial de unión líquida".

Este potencial depende del tipo, de la concentración y de la temperatura del electrolito de referencia. La contribución de este potencial debe ser constante, y conviene que su valor sea lo más pequeño posible. Para ello se seleccionan electrolitos de referencia con aniones y cationes de movilidades similares. Esta condición se cumple por ejemplo con el cloruro de potasio o nitrato de potasio, sustancias ampliamente utilizadas como electrolitos de referencia.

El nivel del electrolito interno debe mantenerse siempre por encima del nivel de la disolución de la muestra, para impedir la contaminación de la disolución del electrodo y la obstrucción de la unión debida a la posible reacción entre componentes de la muestra y del electrolito interno. La obstrucción del diafragma es probablemente la causa más frecuente del comportamiento errático del electrodo en las medidas potenciométricas.

Por otra parte, si se mantiene el nivel del líquido por encima del de la disolución del analito, es inevitable que se contamine algo la muestra. En la mayoría de los casos, la contaminación es tan pequeña que no tiene trascendencia. Sin embargo, en la determinación de iones tales como cloruro, potasio, plata y mercurio, componentes habituales del electrodo de referencia, se deben tomar precauciones para evitar esta fuente de error. Una posibilidad es interponer un segundo puente salino entre el analito y el electrodo de referencia. Este puente debe contener un electrolito que no interfiera, tal como nitrato de potasio o sulfato de sodio.Varios fabricantes de instrumentos ofertan electrodos de doble unión que presentan este diseño.

En la actualidad, además de electrolitos líquidos, existen electrolitos tipo gel (por ejemplo, geles glicerados) y electrolitos sólidos, constituidos por polímeros conductores. En estos dos últimos casos se trata de electrodos de bajo mantenimiento que no necesitan reposición del electrolito interno.

El diafragma es el elemento crítico del electrodo, influyendo directamente en el tiempo de vida del mismo. El tipo a utilizar depende principalmente de la aplicación. El diafragma más

común está constituido por una placa de cerámica porosa químicamente inerte. Otra configuración es el diafragma esmerilado, consistente en un orificio en el cuerpo del electrodo, semicerrado por un anillo de teflón. Este último no se obstruye con el uso como ocurre con los cerámicos, y permite un elevado flujo de electrolito. Tiene como limitación que no puede usarse a altas temperaturas. En otros electrodos el diafragma está constituido por un gran anillo de teflón (PTFE) poroso, que garantiza una gran superficie de contacto, pero no altera prácticamente la conductividad de la muestra porque se usa conjuntamente con electrolitos poliacrílicos.

En la actualidad se encuentran en el mercado electrodos sin diafragma, que simplemente tienen un orificio que facilita el contacto directo entre el electrolito y la muestra. En este caso el electrolito debe ser sólido, y por tanto no hay flujo del mismo.

A continuación se estudian los electrodos de referencia más usuales:

A) Electrodo normal de hidrógeno

El electrodo de referencia por antonomasia es el *electrodo normal* (o *estándar*) *de hidrógeno*. Este electrodo se obtiene haciendo burbujear gas hidrógeno, a 1 atm de presión, dentro de una disolución de HCl 1M en la que está sumergido un alambre o lámina de platino platinado (ver esquema en figura 3.4). En este electrodo se da la reacción:

$$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$$

O bien la contraria, si actúa como ánodo. El hecho de que el electrodo de hidrógeno actúe como ánodo o como cátodo depende de la tendencia relativa a la reducción o a la oxidación que tenga la reacción de la semicelda con la que se enfrente.

Al electrodo normal de hidrógeno se le asigna por convenio un potencial normal de 0,00 voltios. Es un valor arbitrario, porque los potenciales absolutos de una semipila no se pueden medir, como ya se ha dicho anteriormente. Los potenciales de los demás electrodos se fijan con respecto al electrodo normal de hidrógeno.

En la práctica, el electrodo normal de hidrógeno no se usa, ya que su preparación es difícil, y su manipulación conlleva riesgos, debido a que el hidrógeno es un gas muy inflamable y explosivo. Se sustituye por otros electrodos, que previamente han sido calibrados frente al de hidrógeno.

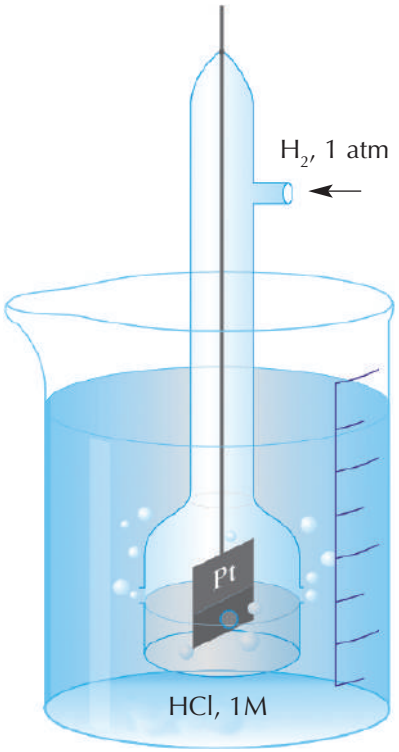


Figura 3.4
Esquema del electrodo estándar de hidrógeno.
(*Fuente:* E. Generali. http://glossary.periodni.com/)

B) Electrodo de calomel o calomelanos

Está compuesto por un hilo de platino en contacto con una mezcla de mercurio, dicloruro de dimercurio y de cloruro de potasio. El sistema se encuentra dentro de un tubo de vidrio dotado de un diafragma (figura 3.5).

La semirreacción del electrodo se expresa con la ecuación:

$$Hg_2Cl_2(s) + 2e^- \rightarrow 2Hg(l) + 2Cl^-$$

El potencial de este electrodo varía con la concentración de cloruro de potasio. Por tanto, esta cantidad deberá indicarse al describir el electrodo. Es frecuente que el electrodo pueda encontrarse saturado en cloruro de potasio, entonces se habla del electrodo de calomel saturado o ECS y su potencial en este caso es de +0,24 voltios.

La desventaja de este electrodo es que contiene mercurio, elemento tóxico y peligroso para el medio ambiente.

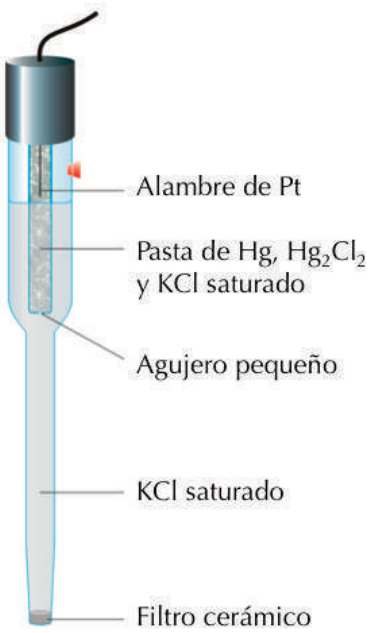


Figura 3.5
Electrodo de calomelanos saturado
(*Fuente:* E. Generali. http://glossary.periodni.com/)

- *Electrodo de plata-cloruro de plata*

Otro tipo de electrodo de referencia muy empleado es de plata-cloruro de plata. Consiste en un conductor de plata sumergido en una disolución de cloruro de potasio, que a su vez está saturada con cloruro de plata. Todo el sistema va dentro de un tubo de vidrio o plástico con un diafragma (figura 3.6).

La semirreacción que tiene lugar en este electrodo es:

$$AgCl(s) + e^- \rightarrow Ag(s) + Cl^-$$

Este electrodo se prepara usualmente con una disolución saturada de cloruro de potasio. De esta forma su potencial, a 25 °C, es de +0,197 voltios.

Una ventaja que tiene este electrodo es que puede usarse a temperaturas altas, por encima de 60 °C.

Sin embargo, el uso de este electrodo con ciertas muestras puede dar lugar a precipitados de sales de plata. Una configuración alternativa es el sistema del segundo puente salino. De esta forma se aísla la plata/cloruro de plata de la muestra mediante una segunda cámara que contiene una solución electrolítica simple, como el cloruro de potasio.

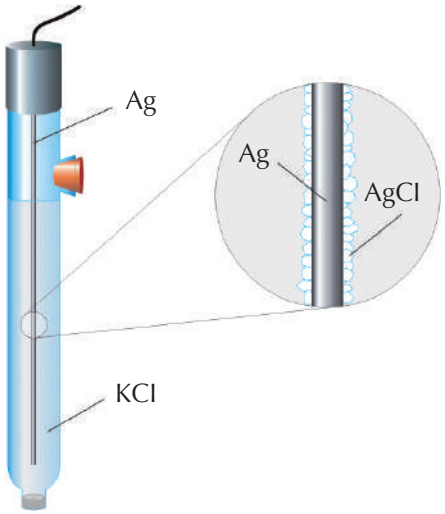


Figura 3.6
Electrodo de plata
(*Fuente:* E. Generali. http://glossary.periodni.com/)

PARA SABER MÁS

Un sistema de referencia más reciente es el sistema de iodo/ioduro. Comparado con el sistema de referencia Ag/AgCl, este sistema destaca por las siguientes características:

- 100% libre de iones de metal, por lo que es un electrodo idóneo para mediciones que no soportan la contaminación de la muestra por iones metálicos.
- Como el potencial de referencia del sistema yodo/yoduro es menos dependiente de la temperatura, se obtienen valores de medición claramente estables bajo amplias condiciones de temperatura.

Su uso está indicado como electrodo de referencia en medidas de pH de alta precisión.

3.2.2. El electrodo indicador

En combinación con el electrodo de referencia se utiliza el electrodo indicador, el cual genera un potencial que varía de manera conocida con la actividad de analito, de forma rápida y reproducible.

Hay dos tipos fundamentales de electrodos indicadores para medidas potenciométricas: los metálicos y los de membrana, o también denominados electrodos selectivos de iones.

A) Electrodos indicadores metálicos

Los electrodos indicadores metálicos pueden estar formados por espiras, hilos, plaquetas metálicas o piezas cilíndricas macizas. En general, presentan gran superficie de contacto con la disolución, asegurando la rapidez en alcanzar el equilibrio. Interesa limpiar la superficie del metal antes de utilizarlo (para muchos metales basta con sumergir el electrodo poco tiempo en ácido nítrico concentrado y a continuación lavarlo repetidamente con agua destilada).

Dentro de estos electrodos se puede diferenciar entre electrodos de primera, segunda y tercera especie, y además electrodos para sistemas redox.

A1. *Electrodos de primera especie para cationes*

Un electrodo de primera especie está constituido por un conductor de un metal puro que está en equilibrio directo con su catión en disolución. Se utilizan para la cuantificación del catión proveniente del metal con que está construido el electrodo. Varios metales son adecuados para la elaboración de electrodos de primera especie, por ejemplo plata, cobre, mercurio, plomo y cadmio. Por el contrario, otros metales no son adecuados como electrodos indicadores por diversas causas: porque tienden a desarrollar potenciales no reproducibles, por el recubrimiento de óxido sobre su superficie, porque se disuelven en medio ácido, etc.

A2. *Electrodos de segunda especie para aniones*

Un electrodo metálico responde también en forma indirecta a los aniones que forman precipitados escasamente solubles o complejos con su catión. Es decir, el potencial variará con la concentración de un anión en equilibrio con el catión del metal que constituye el electrodo. Estos electrodos se denominan de segunda especie debido a que son sensibles a la concentración de un ion que no participa directamente en el proceso de transferencia de electrones.

Por ejemplo, el potencial de un electrodo de plata reflejará exactamente la concentración de ion yoduro en una disolución que esté saturada con yoduro de plata. Las reacciones que tienen lugar son:

$$Ag^{+} + 1\ e^{-} \rightarrow Ag^{0}$$

$$AgI(s) \leftrightarrows Ag^{+} + I^{-}$$

Y globalmente:

$$AgI(s) + 1\ e^{-} \leftrightarrows Ag^{0} + I^{-}$$

A3. *Electrodos de tercera especie*

El potencial de estos electrodos indicadores depende de dos o más procesos químicos acoplados que, en condiciones químicas controladas, varía con la concentración de una especie química determinada.

A4. *Electrodos para sistemas redox*

Son electrodos que responden al potencial redox de una disolución formada por uno o más pares redox. Están construidos de platino, oro u otros metales inertes (figura 3.9.a). Estos electrodos no intervienen en la reacción, sino que desarrollan un potencial que depende únicamente del sistema de oxidorreducción de la disolución en la que están sumergido. En estas medidas, el electrodo inerte actúa como una fuente o un sumidero de electrones transferidos desde el sistema redox en disolución.

Se utilizan en la determinación del punto final en volumetrías redox, y en el estudio del carácter oxidante o reductor de aguas naturales o residuales.

B) Electrodos de membrana o electrodos selectivos de iones

Básicamente consisten en un dispositivo que posee una membrana sensible a un determinado ion. Al poner esta membrana en contacto con disoluciones de diferente concentración, se genera una diferencia de potencial eléctrico en ambos lados de la misma.

Dichas disoluciones son, por una parte, el electrolito interno, de concentración o actividad conocidas y en contacto con el electrodo interno; y por otra, la disolución de la muestra, que contiene los iones que se desea determinar.

Se completa el circuito con otro electrodo de referencia externo (igual o de diferente tipo que el interno), y se mide la diferencia de potencial entre ellos (figura 3.7).

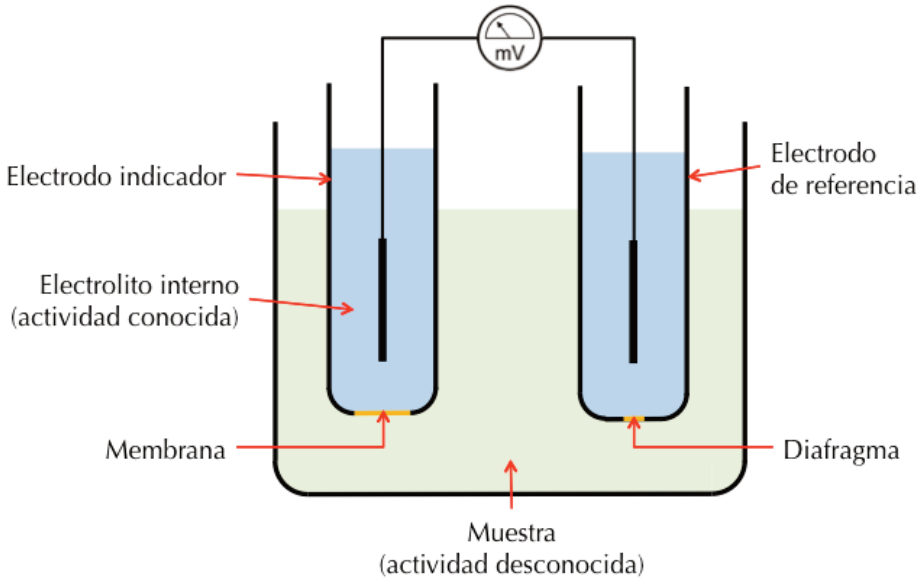


Figura 3.7
Esquema de una celda galvánica con electrodo de membrana y electrodo de referencia

Los electrodos selectivos de iones difieren en la composición y diseño de la membrana sensible. Según este criterio, la IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) sugiere la siguiente clasificación:

a) *Electrodos de membrana cristalina:* pueden ser de cristal único, formados por un solo compuesto iónico (por ejemplo, el electrodo de fluoruro) o policristalinos, formados por una mezcla de compuestos iónicos (por ejemplo, electrodos de sales de plata). Se trata de una membrana con sitios catiónicos que responde selectivamente hacia los aniones.

b) *Electrodos de membrana no cristalina:* pueden ser a su vez de vidrio, en los que el elemento sensible es una fina membrana de vidrio sellada en la punta del electrodo, o electrodos de membrana líquida, en los que el elemento activo es un intercambiador de iones orgánicos hidrofóbico, disuelto en un disolvente insoluble en agua. El conjunto se embebe en una membrana sólida porosa, que se incorpora al electrodo (figura 3.9.c).

c) *Electrodos sensibles a moléculas:*

- Electrodos sensores de gases, que realmente son celdas electroquímicas constituidas por un electrodo indicador y uno de referencia sumergidos en una disolución electrolítica interna, que se pone en contacto con la disolución del analito a través de una membrana semipermeable a gases.
- Electrodos sensores a enzimas. En estos dispositivos la muestra se pone en contacto con una enzima inmovilizada, la cual reacciona con el analito dando lugar a algún producto (por ejemplo, amoniaco, dióxido de carbono, etc.). La concentración de este producto, que es proporcional a la concentración del analito, se determina mediante un transductor, que frecuentemente es un electrodo de membrana.

En la actualidad, el desarrollo de nuevos electrodos de membrana es un campo importante de investigación.

En los últimos años también se ha desarrollado una nueva familia de electrodos indicadores basados en el empleo de semiconductores. Son los denominados transistores de efecto de campo sensibles a iones (ISFET son sus siglas en inglés). Sus ventajas son: robustez, pequeño tamaño, inercia frente a ambiente desfavorable, respuesta rápida, baja impedancia eléctrica, no necesitan hidratarse antes de usarlos y pueden almacenarse secos por tiempo indefinido. Gracias a sus características resultan de gran utilidad en aplicaciones como la monitorización medioambiental, el análisis clínico y el control de procesos industriales.

A continuación se desarrolla el electrodo de vidrio, dado su uso ampliamente extendido.

C) Electrodo de vidrio

Son electrodos que se emplean para determinar pH fundamentalmente, y la concentración de algunas especies iónicas con una sola carga, como Na^+, Li^+ o NH_4^+. La respuesta a uno u otro catión de forma selectiva se consigue modificando la composición del vidrio, que también influye en la sensibilidad, resistencia química, térmica o mecánica del electrodo, y en la escala de medida.

La medida del pH es de gran interés en muchos ámbitos, tanto a nivel de laboratorio de análisis como de procesos industriales, siendo el electrodo de medida de pH el principal representante de los electrodos de vidrio.

Las mediciones del electrodo de pH se hacen comparando las lecturas de potencial eléctrico que proporciona una muestra con las lecturas correspondientes a patrones de pH perfectamente definido (disoluciones tampón). Cuando un electrodo sensor de pH entra en contacto con una muestra, se desarrolla un potencial a través de la superficie de la membrana sensible que varía con el pH. Un electrodo de referencia aporta un segundo potencial invariable para comparar cuantitativamente los cambios del potencial de la membrana sensible. Por último, un potenciómetro sirve como dispositivo de lectura y calcula la diferencia de potencial entre el electrodo de referencia y el electrodo indicador en milivoltios. Los milivoltios se convierten en unidades de pH y se muestran en la pantalla del potenciómetro.

Los electrodos de pH de membrana de vidrio suelen presentarse en una forma combinada que incluye un electrodo indicador y uno de referencia dentro de una misma carcasa (ver esquema en figura 3.8 y figura 3.9.b). El uso de un electrodo combinado simplifica el trabajo, y es a lo que se tiende en la actualidad sea cual sea la aplicación (determinación de pH u otra). El uso de los electrodos indicadores y de referencia separados solamente es de utilidad cuando existe una gran diferencia en su vida útil.

PARA SABER MÁS

Electrodos combinados

Un electrodo combinado consta de una doble camisa, estando el electrodo indicador alojado en la interna, y el electrodo de referencia en la externa. Los tubos externo e interno se encuentran físicamente separados, pero iónicamente conectados, por medio del flujo de iones a través de un diafragma de material cerámico o resina epoxi, que proporciona continuidad eléctrica entre el electrodo de referencia y la disolución en la que está sumergida el conjunto.

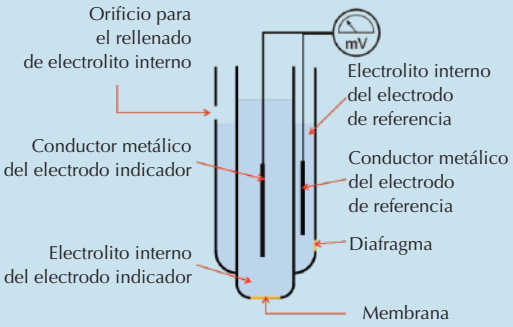

Orificio para el rellenado de electrolito interno
mV
Electrolito interno del electrodo de referencia
Conductor metálico del electrodo indicador
Conductor metálico del electrodo de referencia
Diafragma
Electrolito interno del electrodo indicador
Membrana

Figura 3.8
Esquema de un electrodo combinado

Son habituales en el mercado los electrodos combinados de bajo mantenimiento, en los que el electrolito interno se presenta en forma de gel, por lo que no es necesario el control del nivel del mismo.

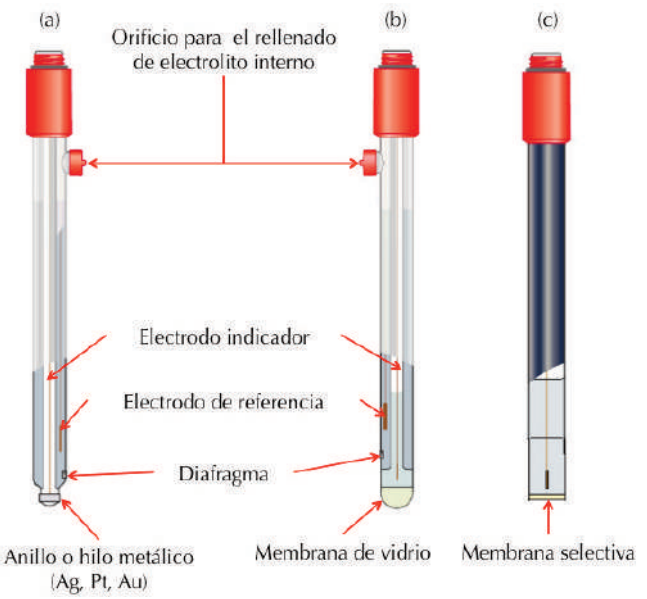


Figura 3.9
(a) Electrodo combinado metálico para medida del potencial redox.
(b) Electrodo combinado de pH.
(c) Electrodo selectivo de iones; es un electrodo indicador, necesita electrodo de referencia

3.2.3. Potenciómetro o dispositivo de medida de potencial

El dispositivo que mide el voltaje de la celda que forman el electrodo de referencia y el electrodo indicador se denomina *potenciómetro*, el cual amplifica la señal eléctrica que producen los electrodos ya que ésta es muy débil. Estos dispositivos en la actualidad están dotados de microprocesadores, que presentan directamente la lectura de la concentración que se quiere determinar.

3.3. Características analíticas y aplicaciones

Generalmente la muestra que va a ser analizada por potenciometría debe estar en disolución, aunque hay algunas aplicaciones para muestras en estado sólido y gaseoso. Para la mayoría de las determinaciones, se necesitan concentraciones de analito mayores a 10^{-6} M. En las determinaciones se deben tener en cuenta los efectos de la matriz, como por ejemplo diferencia en fuerzas iónicas, electrolitos presentes, especies que puede estropear la superficie activa del electrodo, etc.

Para poder determinar una sustancia por técnicas potenciométricas, ésta o alguno de sus posibles complejos debe ser electroactiva dentro del rango de trabajo. Cumpliendo este requisito, y disponiendo del electrodo adecuado, las aplicaciones de la técnica son muy variadas, desde medidas de pH y determinaciones cuantitativas de muchos iones inorgánicos y orgánicos hasta determinaciones de constantes y velocidades de reacción, por poner algunos ejemplos.

La potenciometría es una técnica simple desde el punto de vista experimental y de bajo coste respecto del equipo y personal necesario. Además los análisis son rápidos, pueden hacerse mediciones continuas, "in situ" y son fácilmente reproducibles. Como inconvenientes se debe señalar que hay muchos iones para los cuales no existe electrodo selectivo, y que se requieren calibraciones frecuentes para conseguir la mayor precisión posible.

Los análisis potenciométricos pueden dividirse en dos tipos, según el método que se lleve a cabo: la medida directa del potencial o potenciometría directa, y las valoraciones potenciométricas.

3.3.1. Potenciometría directa

Consiste en la medida directa del potencial de una disolución. El objetivo de esta medida puede ser el conocimiento de dicho potencial per se, o, más frecuentemente, el pH de la disolución, o la concentración de una especie determinada. Simplemente se compara el potencial que se obtiene al sumergir los electrodos en la disolución del analito, con el potencial que desarrollan los electrodos en disoluciones patrón de concentraciones conocidas del analito.

La temperatura afecta al valor del potencial medido por el electrodo a través de la ecuación de Nernst. Para evitar este efecto es necesario que la temperatura permanezca constante durante todo el análisis, tanto durante la calibración con patrones como durante la medida de las muestras. Las posibles variaciones de temperatura se pueden corregir mediante la compensación automática de la temperatura (CAT) introduciendo en el instrumento el valor de la temperatura de las muestras, para lo cual existen varias opciones:

- Introducción manual de la temperatura mediante el teclado del potenciómetro.
- Utilización de un sensor de temperatura (habitualmente sondas Pt-100) conectado al potenciómetro, que se sumerge en la muestra junto al electrodo.
- Utilización de electrodos combinados que incorporan el sensor de temperatura, de manera que se facilita la manipulación, al poder realizar la medida del potencial y de la temperatura con un único elemento.

Dado que la determinación del pH es algo habitual, prácticamente todos los potenciómetros comercializados presentan como señal analítica esta magnitud, existiendo instrumentos que incluso solo aportan el pH y no el potencial, por lo que se les conoce comúnmente como pHmetros. En general, los instrumentos miden potencial, y la señal visualizada es potencial o pH.

A) Medida de pH

Para realizar medidas de pH hay que calibrar el instrumento con uno o más patrones, siendo siempre uno de ellos de pH 7,0. Si se usan más patrones, se elegirán según la zona de la escala de pH donde se vayan a obtener las medidas. Para ello se usan disoluciones tampón (o *buffer*), que suelen adquirirse ya preparadas. Para la calibración se siguen las instrucciones particulares de cada instrumento, pero, en general, hay que sumergir el electrodo en primer lugar en la disolución tampón de pH 7,0, y luego en disoluciones tampón diferentes según la región donde se vayan a realizar las mediciones de pH. Estos otros patrones suelen ser habitualmente de pH 4,0 o 9,0, aunque existen otras posibilidades.

Cuando se calibra con un único patrón, solo se verifica el punto cero del electrodo (véase "Para saber más" en la página siguiente), y se está suponiendo que la pendiente del electrodo es cercana a la curva teórica de Nernst. Solo se recomienda este método de calibración para mediciones comparativas y no absolutas.

Los potenciómetros se calibran usualmente al comienzo de la jornada de trabajo. Para trabajos en continuo se recomienda calibrar con una determinada periodicidad, según las características de los análisis que se lleven a cabo, o en el momento en que la comprobación con una disolución estándar muestre que la lectura indicada por el instrumento no corresponde con el valor nominal del patrón.

Tras la calibración, el instrumento ya está preparado para medir el pH de las disoluciones problema.

PARA SABER MÁS

Teóricamente, cuando se sumerge un electrodo de vidrio en una disolución tampón de pH 7,0, que es un valor idéntico al pH del electrolito interno del electrodo, y se mide la diferencia de potencial, este debería ser cero, suponiendo que el electrodo tiene un ensamblaje totalmente simétrico. Esto es lo que se denomina *punto cero del electrodo*. Pero en la práctica suele haber una desviación de unos pocos milivoltios, dando lugar al denominado *potencial de asimetría* (E_{as}), que depende exclusivamente de la construcción del electrodo.

B) Determinación de la concentración de una especie

Para la determinación de la concentración de una especie por potenciometría es necesario en primer lugar preparar una serie de patrones o disoluciones de concentración conocida de la especie en cuestión.

La relación entre la señal analítica (potencial) y la concentración del analito viene dada por la ecuación de Nernst, a través de una relación logarítmica. Para linealizar esta relación se representa el potencial frente al logaritmo de la concentración del analito, obteniéndose una recta de pendiente negativa.

Una vez que se mide el potencial de dichos patrones, con el electrodo selectivo adecuado, se representan los pares de valores *potencial/logaritmo de concentración,* se calcula la ecuación de la recta que mejor se ajusta, y con ésta se puede calcular la concentración de analito en una muestra problema a partir de la medida de potencial de la misma. El orden de medición siempre se realiza desde el patrón más diluido al patrón más concentrado. A veces será necesario recurrir a la técnica de adición estándar (véase capítulo 2).

Para que la respuesta del electrodo sea lineal, los patrones deben encontrarse dentro de un rango determinado de concentraciones, de forma general, entre 0,1 M y 10^{-5} M. Para concentraciones menores o mayores se observan desviaciones de esta respuesta lineal (figura 3.10).

Como el potencial de un electrodo responde a la actividad de los iones y no a su concentración, para que ambas magnitudes tiendan a igualarse, se añade tanto a los patrones como a las muestras un ajustador o tampón de fuerza iónica (conocido con las siglas ISA o TISAB). Un tampón ISA es una disolución de electrolitos que no interfiere con la muestra y con una fuerza iónica elevada. En el manual de instrucciones de cada electrodo de ion selectivo se detalla la disolución ajustadora de fuerza iónica necesaria para dicho electrodo. Estas disoluciones pueden prepararse en el laboratorio o comprarse ya preparadas.

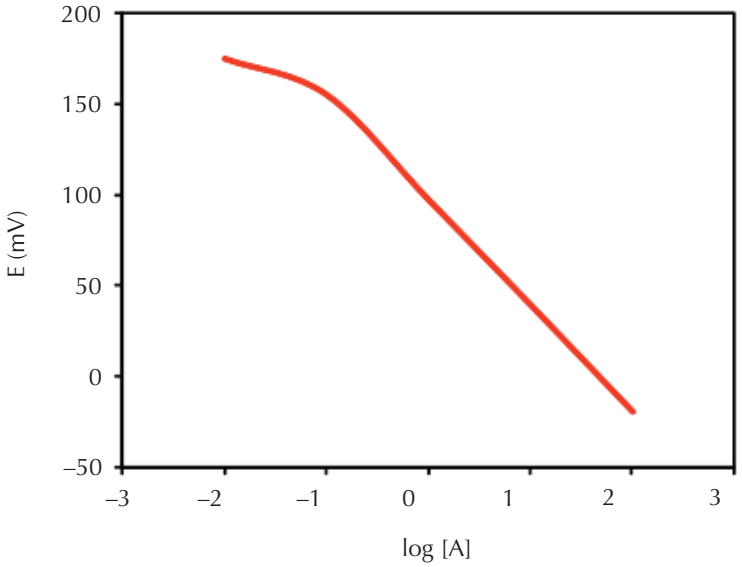


Figura 3.10
Curva de calibrado típica obtenida con un electrodo selectivo de iones

Ciertos electrodos selectivos de iones requieren que tanto muestras como patrones tengan un determinado valor de pH, en unos casos debido a las interferencias de H^+ y OH^-, y otras veces porque las membranas trabajan correctamente en una determinada zona de pH.

3.3.2. Valoraciones potenciométricas

Una valoración es la determinación cuantitativa de un analito mediante su reacción con una sustancia de concentración conocida (agente valorante). Para poner de manifiesto el punto final clásicamente se usan indicadores químicos, que experimentan un cambio perceptible a los sentidos, normalmente de color. En la actualidad el método de indicación del punto final más utilizado es el potenciométrico.

Una valoración potenciométrica consiste en la medida del potencial de la disolución de la muestra problema según se va añadiendo el agente valorante desde una bureta. Tras cada adición de reactivo se deja transcurrir el tiempo necesario para alcanzar el equilibrio. El punto final de la valoración se detecta cuando ocurre un cambio de potencial relativamente grande tras la adición de una pequeña cantidad de valorante.

El uso de un potenciómetro para la determinación del punto final de una valoración facilita datos más exactos que los procedentes del método con indicadores químicos. Está particularmente indicado para valorar disoluciones coloreadas u opacas y para reconocer la presencia de especies desconocidas en una disolución. Su ejecución manual requiere algo más de tiempo que las valoraciones con indicador, pero en la actualidad hay instrumentos en los que se encuentra todo automatizado y simplifican enormemente el trabajo (figura 3.11).

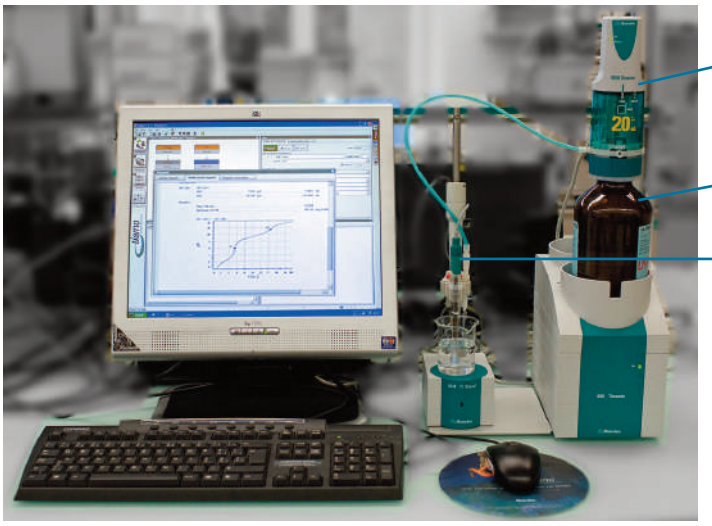


Figura 3.11
Valorador potenciométrico automático

Al comienzo, se agregan porciones grandes del reactivo con el que se valora; a medida que se aproxima el punto final, anunciado por mayores cambios de potencial en cada adición, los volúmenes que se añaden deben ser más pequeños. Para acelerar la llegada a la posición de equilibrio suele ser efectivo agitar la disolución.

- *Determinación del punto final*

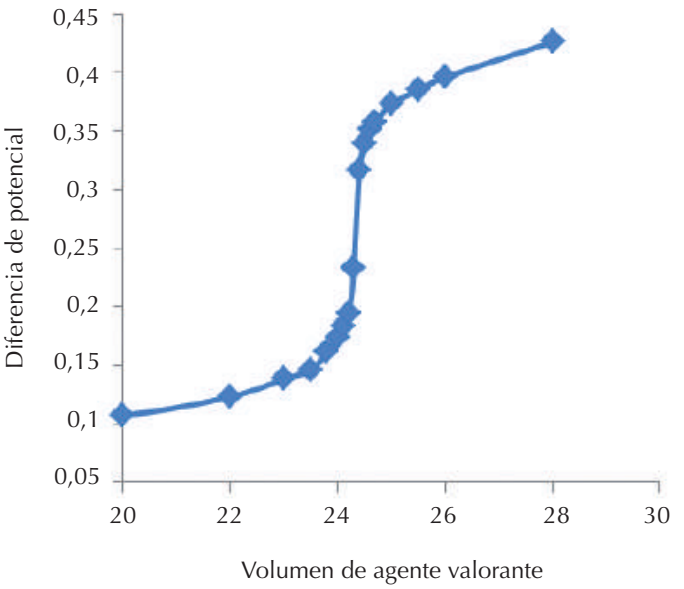


Figura 3.12
Representación de la diferencia de potencial frente al volumen de agente valorante añadido

Hay varios métodos idóneos para determinar el punto final de una valoración potenciométrica. Se puede hacer una representación directa del potencial (o pH) en función del volumen de reactivo. El potencial (o el pH) varían gradualmente en la mayor parte del intervalo de valoración, pero al aproximarse al punto de equivalencia, cambia de forma abrupta (figura 3.12).

El punto final corresponde a la máxima velocidad de cambio del potencial o del pH por unidad de volumen de valorante añadido y se obtiene a partir del punto de inflexión de la curva de valoración. La precisión en la determinación del punto final es mayor cuanto más cuantitativa sea la reacción involucrada.

Otro método de obtener el punto final consiste en calcular el cambio de potencial (o pH) por unidad de volumen de reactivo (es decir, $\Delta E/\Delta V$ o primera derivada). Un gráfico de este cociente en función del volumen añadido conduce a un máximo agudo que corresponde con el punto de inflexión de la curva normal de valoración (figura 3.13).

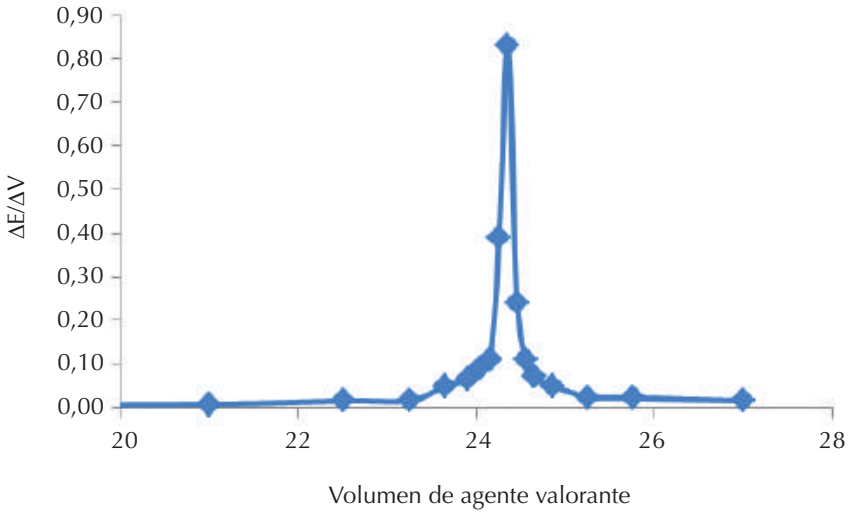


Figura 3.13
Representación de la primera derivada

El punto final puede localizarse con mayor exactitud aún, usando la curva de la segunda derivada, que se obtiene representando la aceleración (variación de la velocidad) de la relación potencial (o pH)/volumen, en función del volumen del valorante añadido. En el punto final, la segunda derivada es numéricamente igual a cero, pues el valor de la ordenada cambia con gran rapidez de signo (figura 3.14).

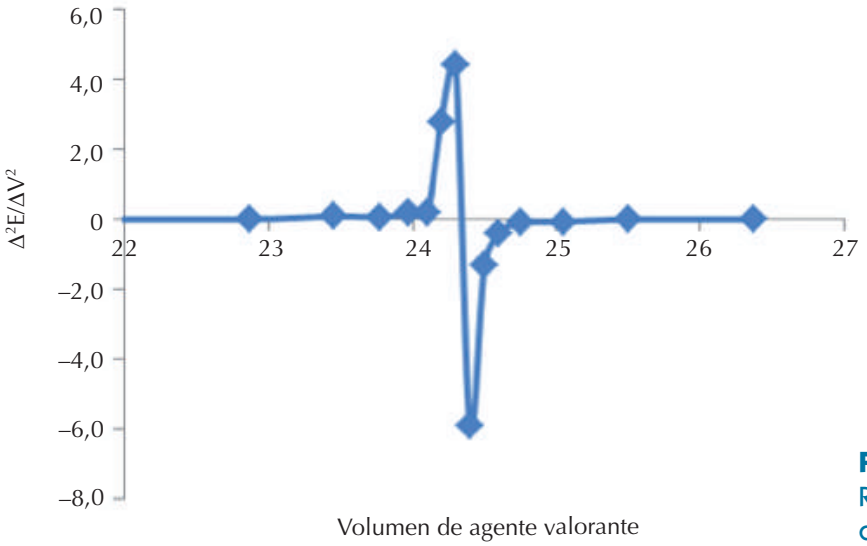


Figura 3.14
Representación de la segunda derivada

Todos estos cálculos y gráficos se pueden realizar con mayor facilidad con una hoja de cálculo, en la que se puede tener una plantilla con las fórmulas necesarias para el cálculo de la primera y la segunda derivadas. No obstante, en la actualidad los valoradores potenciométricos automáticos cuentan con potentes algoritmos integrados para la detección del punto final.

Los resultados obtenidos en las valoraciones con detección potenciométrica del punto final (y en general mediante detección con técnicas instrumentales) suelen ser muy buenos, puesto que se basan en la realización de varias medidas. Además es posible realizar la valoración de disoluciones muy diluidas.

3.4. Metodología de análisis

En general una medida de potencial conlleva los siguientes pasos:

a) Montar el equipo, con los electrodos adecuados según el análisis que se vaya a llevar a cabo, tras verificar su estado.

b) Encender el aparato un tiempo antes de su uso para su estabilización eléctrica.

c) Cuando el electrodo lleva electrolito líquido, retirar el tapón lateral mientras se efectúen las medidas, para equilibrar la presión interna y externa y asegurar un flujo uniforme del electrolito.

d) Lavar el electrodo con suficiente agua destilada o desionizada, antes de su uso, entre medida y medida, y al finalizar el análisis. Secar delicadamente con papel suave antes de introducir en la disolución que se va a analizar, sin frotar.

e) Agitar suavemente mientras se realiza la medida, para asegurar el equilibrio. Muchas veces conviene una agitación continua mediante un agitador magnético, asegurándose en este caso de que el agitador no golpea a los electrodos. A veces estos agitadores producen lecturas erráticas o que tardan en estabilizarse. En estos casos, se debe interrumpir la agitación en el momento de realizar la lectura.

f) Al acabar, apagar el equipo, y desmontar, colocando nuevamente el tapón lateral en los electrodos, y conservándolos como indiquen sus instrucciones particulares. Los electrodos de membrana llevan un capuchón exterior o protector de membrana, que contiene un electrolito adecuado. Así se evita que la membrana se seque.

g) Periódicamente, se debe comprobar la pendiente del electrodo, si el aparato no lo hace automáticamente (véase "Para saber más" de la página siguiente).

- *Mantenimiento*

Periódicamente hay que inspeccionar los electrodos, pues un electrodo bien mantenido puede alargar bastante su vida útil.

PARA SABER MÁS

Comprobar la pendiente del electrodo consiste en verificar que se está cumpliendo la ecuación de Nernst. Según esta ecuación, al representar el potencial frente al logaritmo de la concentración, se obtiene una recta de pendiente (*S*) igual a:

$$S_{teórica} = 2{,}303 \cdot \frac{R \cdot T}{n \cdot F}$$

Para iones monovalentes (n = 1), a 25 °C, la pendiente teórica es de 59,17 mV por cada incremento de diez veces en la concentración del ion. En la práctica, la pendiente se calcula midiendo el potencial de dos disoluciones diferentes, y calculando la variación del potencial con respecto a la variación del logaritmo de la concentración de las disoluciones.

Si se trata de un electrodo de pH, se usan dos disoluciones tampón y se aplica la siguiente fórmula:

$$S_{experimental} = (E_2 - E_1) / (pH_1 - pH_2)$$

Si se trata de un electrodo selectivo, se emplean dos disoluciones estándar del ion correspondiente, y se aplica la fórmula:

$$S_{experimental} = (E_2 - E_1) / (lgC_2 - lgC_1)$$

En este último caso, la pendiente también puede obtenerse a partir de la representación del potencial frente al logaritmo de las concentraciones de los patrones empleados, algo que debe hacerse para obtener la concentración de una muestra desconocida.

Las desviaciones de la pendiente experimental con respecto a la pendiente teórica aceptadas vienen recogidas en las especificaciones de cada electrodo.

Cuando en un electrodo de pH se observan acumulaciones externas de cristales de sal, se enjuaga con agua destilada, y si persisten, se sumerge en una solución 0,1 M de HCl o 0,1 M de HNO_3 durante 15-30 minutos. Si lo que se observa son impurezas, o algún tipo de obstrucción, o la respuesta del electrodo empieza a ser demasiado lenta, será necesario un procedimiento de limpieza más detallado, con disoluciones específicas según la causa del problema. Normalmente las casas comerciales disponen de soluciones limpiadoras para diversos fines. Después de cualquier tratamiento, lavar bien el electrodo con agua destilada o desionizada y dejarlo sumergido en el correspondiente electrolito unos 30 minutos antes de usarlo.

Los electrodos selectivos de iones requieren operaciones de mantenimiento específicas que suelen venir detalladas en sus manuales de uso, los cuales deben leerse siempre previamente.

Si se usa un electrodo rellenable, para limpiarlo por dentro se drena la cámara de referencia (con ayuda de una pipeta o papel absorbente libre de pelusas), se enjuaga con agua destilada hasta que se quite cualquier acumulación de cristales de sal, se enjuaga con una porción de electrolito interno, y se rellena con electrolito interno limpio. El nivel del electrolito no debe bajar más de 2 cm del orificio de llenado.

Resumen

La potenciometría es una técnica electroquímica en la que se mide la diferencia de potencial entre dos electrodos (referencia e indicador) que se sumergen en la muestra. A partir de dicho potencial se puede obtener la concentración de una determinada sustancia. Generalmente esta sustancia debe estar en disolución.

Disponiendo de los electrodos adecuados, las aplicaciones de la técnica son muy variadas, siendo las medidas muy simples.

Los análisis potenciométricos se clasifican en dos grupos, la potenciometría directa, en la que se incluye la medida de pH y la determinación de muchos iones, y las valoraciones potenciométricas, muy exactas, y útiles sobre todo en aquellos casos en los que las valoraciones clásicas no pueden llevarse a cabo.

Práctica n.º 1

Determinación de pH

Objetivo	Determinar el pH de varias muestras: agua del grifo, agua desionizada, agua embotellada, leche, vinagre, zumos comerciales, etc.
Procedimiento	1. Conectar al potenciómetro el electrodo combinado de pH, retirar el protector de membrana y el tapón lateral. 2. Proceder a su calibración siguiendo las instrucciones del equipo. Las disoluciones de calibración deben estar a la misma temperatura que las muestras. 3. Tras la calibración, realizar la medida de pH de cada muestra, introduciendo el electrodo en las mismas. 4. Lavar el electrodo al principio y tras cada medida con abundante agua destilada o desionizada, secándolo convenientemente.

Práctica n.º 2

Determinación de fluoruros en un colutorio dental

Objetivos	• Aplicación de un electrodo selectivo de iones a la determinación directa de un analito. • Determinar la concentración de ion fluoruro en un colutorio dental.
Procedimiento	1. Preparar una serie de patrones en los que la concentración de ion fluoruro se encuentre entre 1 y 100 mg/L. 2. Transferir 25,0 mL de cada uno de los patrones a un vaso y agregar 25,0 mL de solución TISAB (ver nota 2). 3. Montar el potenciómetro con el electrodo de fluoruro y el electrodo de referencia correspondiente, y el agitador magnético.

[.../...]

Procedimiento	4. Ir midiendo los patrones, comenzando por la solución más diluida. Dejar estabilizar la lectura y anotar el valor de potencial para cada patrón. 5. Preparación de la muestra: realizar una dilución adecuada de la muestra, según la cantidad de fluoruro que contenga, para que la medida del potencial de la dilución sea del orden de los potenciales de los patrones que se preparan. 6. Medir el potencial de la muestra de ensayo preparada. 7. En una hoja de cálculo, obtener la ecuación lineal que mejor se ajuste a los datos experimentales, y calcular la concentración de fluoruros en la muestra original.
Notas	1. Las soluciones de fluoruro deben conservarse en frascos de polietileno. 2. La disolución TISAB se prepara de la siguiente manera: se vierten 500 mL de agua destilada en un vaso de 1 litro. Se añaden 57 mL de ácido acético glacial, 58 g de cloruro sódico y 4 g de citrato de sodio. Agitar hasta obtener la disolución. Colocar el vaso en un baño de agua para enfriar. Añadir lentamente a una disolución de hidróxido sódico 5 M controlando el pH hasta que el mismo se sitúe entre 5 y 5,5 unidades. Enfriar a temperatura ambiente y llevar a 1 litro con agua desionizada.

Práctica n.º 3

Determinación de la concentración de ácido fosfórico en una bebida de cola mediante valoración potenciométrica

Objetivos	• Aplicación de la potenciometría para la determinación del punto final en una valoración ácido-base. • Determinación del ácido fosfórico presente en una bebida de cola por potenciometría.
Procedimiento	1. Preparación de la muestra: desgasificar la bebida de cola elegida calentando al baño María a 50 ºC, durante unos 20 minutos. 2. Tomar 25,0 mL de la bebida y colocar en un vaso de precipitado pequeño. 3. Disponer en la bureta NaOH 0,020 N (preparar y valorar previamente frente a patrón primario adecuado, por ejemplo ftalato ácido de potasio). 4. Colocar el vaso con la muestra sobre un agitador magnético, con una varilla agitadora en su interior y disponer la bureta sobre el vaso. 5. Montar el potenciómetro con el electrodo combinado de pH e introducir el mismo en el vaso que contiene la muestra asegurándose que se cubre adecuadamente el diafragma. 6. Anotar el pH inicial y añadir desde la bureta el agente valorante. Tras cada adición, esperar a que la lectura se estabilice, y anotar en una tabla el pH frente al volumen añadido.

[.../...]

Procedimientos	7. Finalizada la valoración representar los valores obtenidos en una hoja de cálculo, calcular y representar la primera y la segunda derivadas, y determinar el punto final. Calcular la concentración de ácido fosfórico.
Nota	Dado que el ácido fosfórico es un ácido débil, los saltos que se observan en la curva potencial/concentración son suaves. Para poder detectarlos, las adiciones de agente valorante deben ser en incrementos suficientemente pequeños.



Ejercicios propuestos

1. En una celda electroquímica tienen lugar las siguientes semirreacciones:

$$Zn(s) \rightarrow Zn^{2+} + 2e^-$$

$$Cu^{2+} + 2e^- \rightarrow Cu(s)$$

   a) ¿Qué reacción se lleva a cabo en el ánodo? ¿Y en el cátodo?

   b) ¿Hacia qué electrodo se dirigen los electrones?

   c) Escribe la reacción neta ajustada que tiene lugar.

   d) Calcula el potencial estándar de la reacción anterior. En función de este valor, indica si se trata de una celda galvánica o electrolítica.

2. Se realiza una valoración de Na_2CO_3 con HCl. Realiza un esquema explicativo de todo el dispositivo necesario para la valoración, indicando los electrodos que se deben usar.

3. Determina la pureza de una sal de Mohr, $(NH_4)_2\,Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$, si 1,1010 g de la misma se disuelven en agua acidulada y se valoran potenciométricamente con $K_2Cr_2O_7$ 0,135N. Entre ambos compuestos tiene lugar la siguiente reacción:

$$Fe^{2+} + Cr_2O_7^{2-} \leftrightarrows Fe^{3+} + Cr^{3+}$$

   Los valores de potencial en función del volumen de agente valorante añadido son los siguientes:

Volumen añadido (mL)	E (mV)
0	–355
2,5	–363
5,0	–372
7,5	–383
10,0	–395
12,5	–409
15,0	–425
17,5	–440
19,0	–480
20,0	–530
20,5	–560
21,0	–600
21,5	–620
22,0	–638
23,0	–673
24,0	–691
25,0	–699

4. Se mide el potencial de varias disoluciones de NaF de distinta concentración, obteniéndose los siguientes valores:

Concentración F^- (M)	E (mV)
$1 \cdot 10^{-4}$	40
$5 \cdot 10^{-5}$	60
$3 \cdot 10^{-5}$	72
$1 \cdot 10^{-5}$	100
$5 \cdot 10^{-6}$	118

a) ¿Qué tipo de relación algebraica existe entre el potencial y la concentración de ion fluoruro?

b) Realiza un gráfico con el logaritmo de la concentración de ion fluoruro y el potencial medido. Encuentra la línea que mejor se ajusta a los puntos, gráfica y matemáticamente.

c) Si en las mismas condiciones en las que se ha determinado el potencial de las disoluciones se mide una muestra problema y se encuentra un potencial de 57,6 mV, ¿cuál será la concentración de ion fluoruro en dicha muestra?

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. Indica cuál de las siguientes frases es correcta:
   - ☐ *a)* Los potenciales de electrodo suelen tabularse como potenciales normales de reducción.
   - ☐ *b)* Los potenciales de electrodo suelen tabularse como potenciales normales de oxidación.
   - ☐ *c)* Los potenciales de electrodo no pueden conocerse.

2. ¿Qué función tiene el puente salino en una pila electroquímica?:
   - ☐ *a)* Asegurar la circulación de electrones en la pila.
   - ☐ *b)* Evitar que precipiten iones.
   - ☐ *c)* Asegurar la circulación de iones en la pila.

3. ¿Cuál de estas afirmaciones es cierta sobre los electrodos indicadores metálicos?:
   - ☐ *a)* Están formado por una membrana.
   - ☐ *b)* Presentan gran superficie de contacto con la disolución.
   - ☐ *c)* Tienen un potencial constante.

4. Completar la frase de forma correcta: "Un electrodo de pH…:
   - ☐ *a)* … es un electrodo de referencia".
   - ☐ *b)* … suele presentarse de forma combinada incluyendo un electrodo indicador y uno de referencia".
   - ☐ *c)* … siempre arroja un potencial de 0,0 V".

5. Cuando se va a realizar una medida de potencial con un potenciómetro:
   - ☐ *a)* Se enciende el aparato primero y luego se conectan los electrodos adecuados.
   - ☐ *b)* Se conectan los electrodos primero y luego se enciende el aparato.
   - ☐ *c)* Se puede encender el aparato antes o después de conectar los electrodos.

6. Los electrodos que se usan en potenciometría:
   - ☐ *a)* Se secan cuidadosamente antes de introducirlos en la disolución que se va a medir.
   - ☐ *b)* No pueden usarse nunca en una disolución agitada con un agitador magnético.
   - ☐ *c)* Entre medida y medida se lavan con un electrolito adecuado.

SOLUCIONES:

1. a b c	**3.** a **b** c	**5.** a **b** c
2. a b **c**	**4.** a **b** c	**6. a** b c

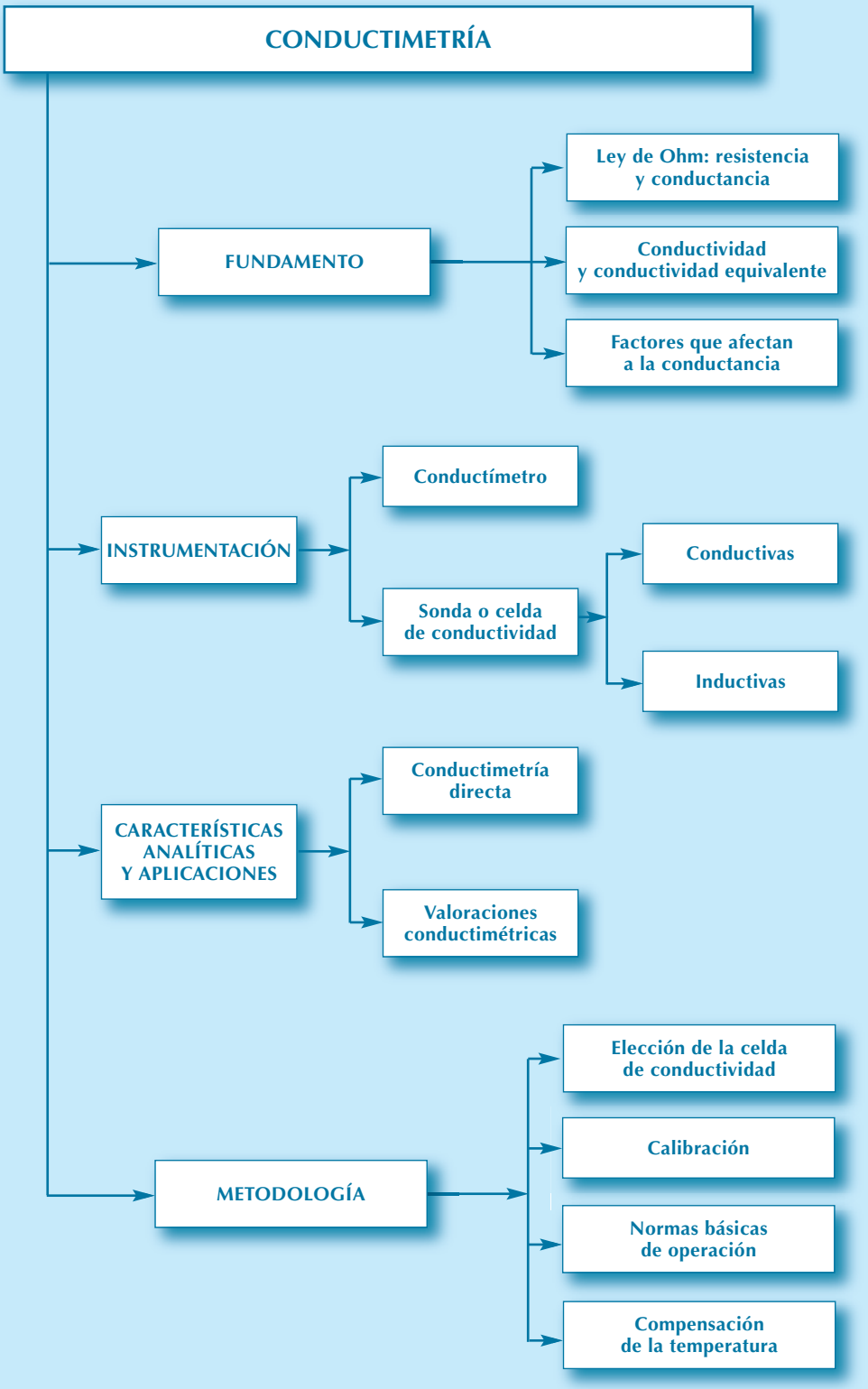
4

Conductimetría

Objetivos

1. Comprender los fundamentos básicos de la conductimetría y las características analíticas de la técnica.
2. Conocer las características de un conductímetro y de la sonda o celda de conductimetría, para elegir la sonda adecuada en cada situación.
3. Aprender y practicar el manejo de un conductímetro: la calibración de la celda de conductividad y la medida de la conductividad de distintas muestras.
4. Aplicar la técnica al cálculo del punto final en determinaciones volumétricas.

Mapa conceptual del capítulo



Glosario

Dureza del agua. Propiedad del agua debida a la presencia de iones metálicos polivalentes en disolución, siendo los mayoritarios calcio y magnesio, este último en menor proporción.

Electrolisis. Proceso en el que por medio de la aplicación de una corriente eléctrica continua tiene lugar la descomposición química de un compuesto.

Electrolito. Sustancia que al disolverse, generalmente en agua, se disocia dando lugar a dos o más iones:

$$AB^- \leftrightarrows A^- + B^+$$

Electrolitos débiles. Sustancias que en disolución están parcialmente disociadas en forma iónica, como pueden ser los compuestos iónicos poco solubles o compuestos moleculares (p. ej., CH_3COOH, NH_3). Las disoluciones de dichas sustancias no son buenas conductoras de la electricidad.

Electrolitos fuertes. Compuestos que en disolución se disocian completamente dando lugar a una alta concentración de iones; son todos los compuestos iónicos solubles (p. ej., NaCl, KCl), así como ácidos y bases fuertes (p. ej., HCl, HNO_3, NaOH). Sus disoluciones son buenas conductoras de la electricidad.

Migración. Desplazamiento de iones en un campo eléctrico.

Polarización por concentración. Fenómeno que se da en los procesos electroquímicos cuando la transferencia de materia hacia el electrodo es más lenta que la velocidad de la reacción electrolítica que tiene lugar en su superficie, lo que origina un desequilibrio iónico entre la superficie del electrodo y el seno de la disolución.

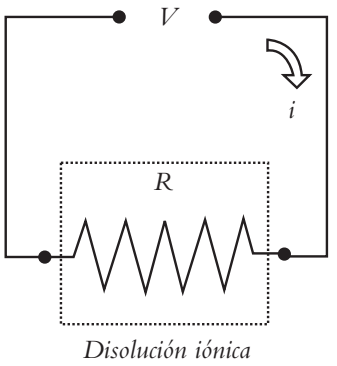
Pt-100. Tipo de termorresistencia, sensor para la medida de la temperatura basado en el aumento de la resistencia eléctrica de un material en función de la temperatura a la que esté expuesto. Una sonda Pt-100 presenta una resistencia de 100 Ω a 0 ºC.

Viscosidad. Propiedad de un fluido que mide su resistencia a fluir. En los líquidos la viscosidad disminuye con el aumento de la temperatura.

4.1. Fundamento

Como ya se ha visto, en las técnicas electroquímicas la muestra se hace formar parte de un circuito eléctrico y se mide la variación de alguna de las magnitudes eléctricas básicas relacionadas en la ley de Ohm: tensión (voltaje o diferencia de potencial), intensidad de corriente y resistencia, que se produce como respuesta en función de las características de la muestra. Dicha variación se puede relacionar con la concentración del analito o componente de interés.

La conductimetría se basa en la medida de la conductividad eléctrica que presenta una disolución. Las disoluciones, al incorporarse como un elemento conductor a un circuito eléctrico, obedecen a la ley de Ohm: cuando entre dos puntos de un conductor se aplica una diferencia de potencial, se establece entre ellos una corriente eléctrica cuya intensidad será directamente proporcional a la diferencia de potencial aplicada, e inversamente proporcional a la resistencia del conductor (figura 4.1).



$$i = \frac{V}{R}$$

Figura 4.1
Aplicación de la ley de Ohm a un circuito eléctrico donde la resistencia está constituida por una disolución iónica

Mientras que en el caso de los conductores metálicos la conducción de la electricidad se debe al movimiento de los electrones, en el caso de las disoluciones de electrolitos la corriente eléctrica se debe a la *migración* de los iones bajo la influencia de un gradiente de potencial. En ausencia de campo eléctrico estos iones se mueven de manera azarosa, de forma que la distancia efectiva promedio recorrida por el conjunto de los mismos es nula. Sin embargo, cuando la disolución se somete a un campo eléctrico, los iones se moverán en uno u otro sentido, en función de su carga (figura 4.2).

La velocidad a la que se mueven los iones en el seno de la disolución depende de los siguientes factores:

- *Movilidad de los iones*, que está definida por su carga y tamaño: una mayor carga y un menor tamaño dan lugar a mayor velocidad de migración.
- *Viscosidad de la disolución:* una mayor viscosidad incide en menor velocidad de migración.
- *Gradiente de potencial:* a medida que aumenta el potencial eléctrico al que es sometida la disolución, los iones se mueven con mayor velocidad.

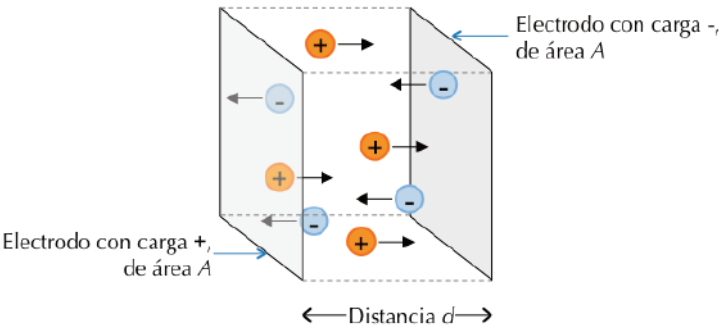


Figura 4.2
Celda de conductividad: porción de disolución delimitada por dos electrodos de área A

En esta técnica analítica se mide la conductancia, es decir, la capacidad de la disolución de conducir la corriente eléctrica, y es la magnitud inversa de la resistencia. Se representa por la letra G y su unidad en el sistema internacional es el siemens (S), equivalente a la inversa de un ohmio: $1S = 1\ \Omega^{-1}$.

PARA SABER MÁS

Relación matemática entre resistencia y conductividad eléctrica

La resistencia de un elemento conductor depende de su naturaleza y de su geometría:

$$R = \rho \frac{d}{A}$$

Invirtiendo la expresión anterior se obtiene la expresión que define la conductancia:

$$G = \frac{1}{R} = \frac{1}{\rho} \cdot \frac{A}{d}$$

De donde se obtiene la relación entre la conductancia y la conductividad:

$$\kappa = \frac{1}{\rho} \ \therefore \ \theta = \frac{d}{A} \ \Rightarrow \ \kappa = G \cdot \theta$$

- R: resistencia eléctrica.
- ρ: resistividad eléctrica.
- d: distancia que deben recorrer las cargas eléctricas a lo largo del elemento conductor.
- A: área de la sección transversal del elemento conductor.
- θ: constante de celda.
- κ: conductividad eléctrica, inversa de la resistividad eléctrica.

Para unas condiciones dadas (temperatura y voltaje aplicado) el valor de la conductancia vendrá dado por la naturaleza del elemento conductor, la disolución y sus dimensiones, en este caso el volumen de disolución delimitado por los electrodos, y denominado celda de conductividad, a través de la cual se establece el paso de corriente eléctrica (figura 4.2).

De manera similar a la conductancia, se define la conductividad, representada por la letra griega *kappa* (κ), como la magnitud inversa de la resistividad, y corresponde a la conductancia de una disolución contenida en 1 cm^3. Es decir, la conductividad depende exclusivamente de la capacidad intrínseca de la disolución de conducir la corriente eléctrica, es decir, de la movilidad y concentración de los iones presentes. Se mide en S/cm, aunque se suelen utilizar sus submúltiplos: mS/cm y μS/cm.

La conductancia será el resultado de la contribución de todos los componentes de la disolución con carga eléctrica, es decir, los aniones y cationes presentes. Para cuantificar la capacidad específica de una determinada especie para conducir la corriente eléctrica se define la magnitud conductividad molar, Λ, como la conductividad por unidad de concentración molar:

$$\Lambda = 1000 \cdot \frac{\kappa}{C_M}$$

Λ es la conductividad correspondiente a una porción de disolución de concentración 1 M, de volumen 1 cm^3; κ y C_M son la conductividad, en S/cm, y la concentración molar (mol/L), respectivamente; el factor 1000 es necesario para compatibilizar las unidades anteriores: conversión de L (dm^3) a cm^3.

Algunos iones tienen carga múltiple, por lo que pueden conducir una mayor cantidad de corriente que los monovalentes. Para normalizar la medida de la conductividad por unidad de carga se define, de manera análoga, la conductividad equivalente:

$$\Lambda_{eq} = 1000 \cdot \frac{\kappa}{C_N} = \frac{\Lambda}{z}$$

Donde z representa la carga de la especie considerada.

Aunque la conductividad molar y la equivalente cuantifican la capacidad de conducir la corriente eléctrica de una sustancia por unidad de concentración, en la práctica ocurre que no son independientes de la concentración. Esto se debe a la existencia de interacciones entre los iones en disolución. A partir de un determinado nivel de concentración la conductividad incluso disminuye debido a que las interacciones asociativas entre los iones entorpecen la conducción de la corriente (figura 4.3).

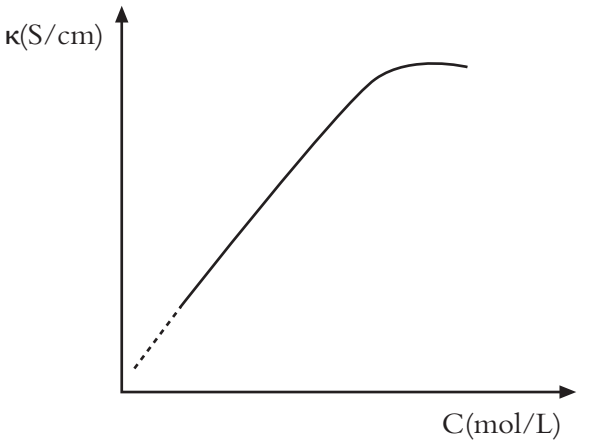


Figura 4.3
Relación habitual entre la conductividad y la concentración

La asignación a cada sustancia de un valor estándar de conductividad equivalente (o molar) se realiza en condiciones de dilución infinita; se habla entonces de conductancia equivalente límite (o conductancia molar límite).

La conductancia límite también se puede expresar como la suma de las contribuciones de las conductividades iónicas de cada una de las especies constituyentes (a dilución infinita):

$$\Lambda^0_{eq} = z_+ \cdot \lambda^0_+ + z_- \cdot \lambda^0_-$$

Donde z representa la carga de cada ion.

El cuadro 4.1 muestra las conductividades equivalentes límites de algunos iones.

Es importante destacar el hecho de que la contribución de cada ion a la conductividad de una disolución, por unidad de carga eléctrica oscila entre valores muy parecidos, a excepción de los iones H^+ y OH^-, cuyos valores de conductividad equivalente límite es marcadamente superior a la del resto de iones.

La conductividad no puede proporcionar información sobre la concentración de cada uno de los iones presentes: es una medida de la concentración iónica total de una disolución. Se trata por tanto de una técnica no selectiva, a pesar de lo cual, como se verá, presenta importantes aplicaciones en el ámbito del análisis químico.

CUADRO 4.1
Conductividades equivalentes límite de algunos iones a 25 °C ($S \cdot cm^2 \cdot eq^{-1}$)

Catión	λ_+^0	Anión	λ_-^0
H^+	349,8	OH^-	198,3
Na^+	50,1	Cl^-	76,3
K^+	73,5	Br^-	78,2
NH_4^+	73,4	I^-	76,8
Ag^+	61,9	NO_3^-	71,4
Mg^{2+}	53,1	CH_3COO^-	40,9
Ca^{2+}	59,5	HCO_3^-	44,5
Cu^{2+}	53,6	SO_4^{2-}	79,8
Fe^{3+}	68,0	CO_3^{2-}	69,3

EJEMPLO 1

¿Cuál sería la conductividad de una disolución de KCl 0,01 M calculada a partir de las conductividades equivalentes límite a 25 °C?

Uno de los patrones más habituales para la calibración de sondas de conductividad es una disolución de KCl 0,01 M (= 0,01 eq/L). Su conductividad teórica, en función de las conductividades equivalentes límite que aparecen en el cuadro 4.1 se calcula de la siguiente forma:

$$\Lambda^0_{eq}(KCl) = \cdot\lambda^0_+(K^+) + \lambda^0_-(Cl^-) = 73{,}5\ S\cdot cm^2\cdot eq^{-1} + 76{,}3\ S\cdot cm^2\cdot eq^{-1} = 149{,}8\ S\cdot cm^2\cdot eq^{-1}$$

$$\kappa(KCl) = \frac{149{,}8\ S\cdot cm^2\cdot eq^{-1}\cdot 0{,}01\ eq/L}{1000} = 1{,}498\cdot 10^{-3}\ S/cm = 1498\ \mu S/cm$$

Se aprecia una diferencia entre este resultado teórico y la conductividad real de esta disolución, que es 1413 µS/cm. Esto se debe a que las conductividades equivalentes límite, a partir de las que se ha realizado el cálculo, son valores extrapolados en condiciones ideales, que no tienen en cuenta la existencia de interacciones entre los iones presentes en las disoluciones reales, en las que se manifiesta una disminución de la conductividad a medida que la concentración aumenta.

4.2. Instrumentación

Un sistema típico de medida de la conductividad en el laboratorio está constituido por una sonda, celda o célula de conductividad, que se sumerge en la disolución que se pretende analizar, conectada a un dispositivo de lectura, donde la señal medida por la celda se transforma y acondiciona para ser mostrada en una pantalla digital como conductividad (figura 4.4).

Existen dos tipos de sondas de conductividad según su principio de funcionamiento: conductivas e inductivas.

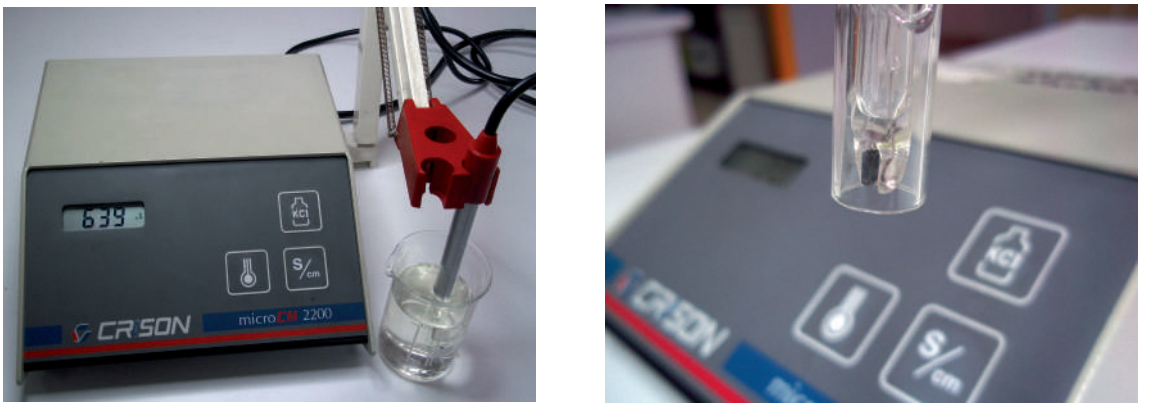


Figura 4.4
Conductímetro y detalle de celda conductimétrica

A) Sondas conductivas

Estas sondas miden la conductancia de una disolución a partir de la resistencia que presenta al paso de una corriente eléctrica y la aplicación de la ley de Ohm; la corriente eléctrica debe establecerse en un cierto volumen de disolución situado entre dos electrodos, enfrentados y separados por una distancia fija, delimitando el volumen de la celda y fijando el valor de la constante de celda (figura 4.5).

Los electrodos pueden estar constituidos por grafito, acero inoxidable, titanio o, más comúnmente, platino. En este último caso la superficie de los electrodos suele estar recubierta por una fina capa de platinado para incrementar el área superficial y minimizar así fenómenos de polarización (un electrodo recubierto de platino platinado puede tener un área real 100 o 1000 veces mayor que la geométrica). Estos electrodos de platino platinado son los que se deben utilizar en el caso de medidas que exijan la mayor precisión.

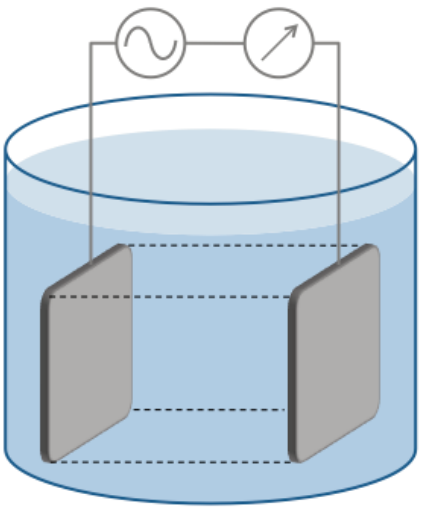


Figura 4.5
Detalle de una celda de conductividad correspondiente a una sonda conductiva

Los electrodos están protegidos por un cuerpo cilíndrico, de vidrio o material plástico, abierto por la parte inferior a modo de campana, para sumergir los electrodos en la disolución objeto de medida; de esta forma se evita el movimiento brusco de la disolución en la celda y la posibilidad de medidas erróneas. Una vez que los electrodos están en contacto íntimo con la disolución se aplica un potencial alterno de frecuencia suficientemente alta (puede ser de hasta 3000 Hz) para minimizar la polarización por concentración y la electrolisis de las sustancias disueltas.

El parámetro característico de una sonda de conductividad es la constante de celda, que depende de la geometría de la misma. Es habitual utilizar celdas de constante 1 cm^{-1}: electrodos de 1 cm^2 de área separados por 1 cm. Estos electrodos son adecuados para realizar medidas en un amplio rango de conductividad; existen, sin embargo, celdas con constantes diferentes, por ejemplo 0,1 cm^{-1} para disoluciones de baja conductividad, y celdas de constante 10 cm^{-1}, para medidas en la zona de alta conductividad (cuadro 4.2).

CUADRO 4.2
Constantes de celda recomendadas para distintos intervalos de conductividad

Rango de medida	Constante de celda recomendada (cm^{-1})
< 20 µS/cm	0,01
1 – 200 µS/cm	0,1
10 – 2000 µS/cm	1
100 – 20000 µS/cm	10
1 – 200 µS/cm	50

Existen otras variantes de este tipo de sondas con tres electrodos en forma de anillo que se sitúan en paralelo entre sí, alineados a lo largo del eje principal de la sonda (figura 4.6). Este tipo de sonda resulta útil para la medida de la conductividad en flujos.

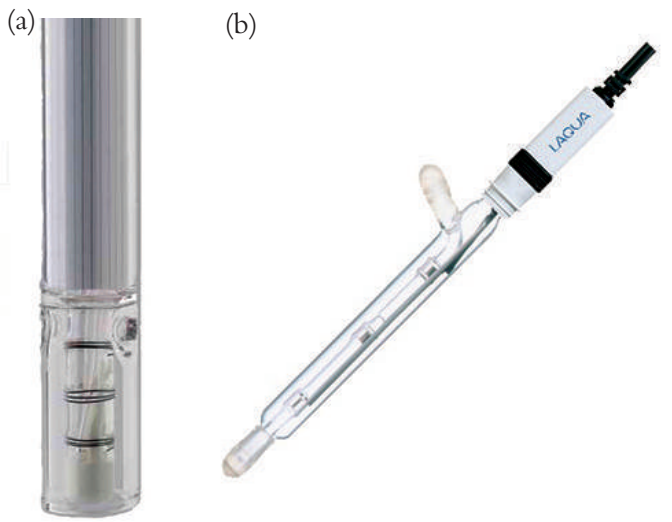


Figura 4.6
(a) Detalle de sonda conductiva de tres electrodos (de Crison)
(b) Sonda de tres electrodos para medición de conductividad en flujos (de Horiba)

B) Sondas inductivas (sondas sin electrodos)

Estas sondas están constituidas por dos bobinas en el interior de una carcasa en forma de anillo, a través y alrededor del cual fluye el líquido del que queremos conocer la conductividad (figura 4.7). Sobre la primera bobina se aplica un voltaje V_1 que induce una corriente en la segunda bobina, cuyo valor depende de la resistencia del líquido que rodea a ambas.

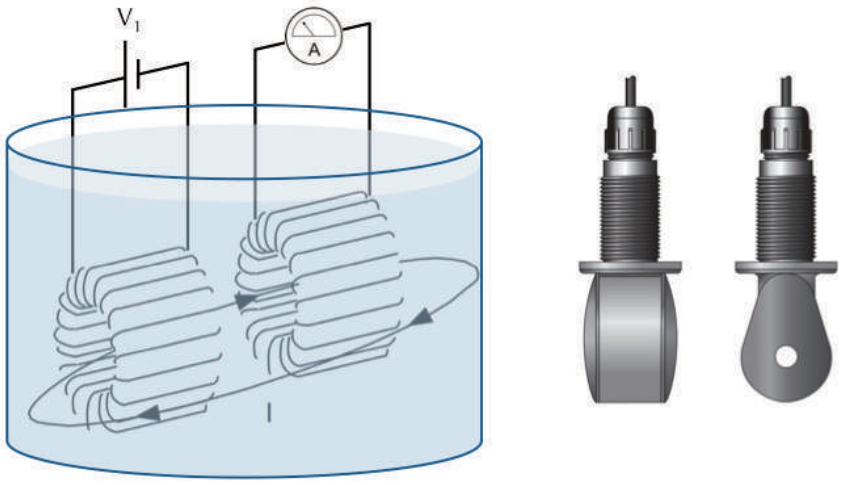


Figura 4.7
Esquema y detalle de una sonda inductiva (cortesía de Grundfos)

Las ventajas de las sondas inductivas son las siguientes:

- No requieren electrodos, por lo que no hay efectos de polarización.
- Proporcionan mediciones exactas en productos o disoluciones con un alto nivel de suciedad y tendencia a sedimentar.
- El sensor está completamente aislado de la muestra.

4.3. Características analíticas y aplicaciones

La conductimetría se aplica a muestras líquidas en un amplio número de campos, desde el laboratorio de análisis a diferentes vertientes de la industria química: productos farmacéuticos, alimentación, tratamiento de aguas residuales, procesos de purificación de agua, etc.

Se trata de una técnica sencilla, con gran facilidad de aplicación, de respuesta rápida, económica y que apenas requiere mantenimiento. La mayor limitación de esta técnica es su falta de selectividad: la conductividad de una disolución se debe a la contribución de todas las especies iónicas presentes.

El valor de la conductividad puede verse afectado por la contaminación de la muestra dentro de la celda debida a la presencia de materia en suspensión de cierto tamaño, o de aceites o grasas. Otra posible fuente de interferencias es la presencia de burbujas de aire.

En muestras de agua de baja conductividad (<1 mS/cm) la medida puede verse influida por dióxido de carbono y amoniaco atmosféricos que puedan disolverse en la muestra.

Asimismo, en aguas con muy bajo contenido iónico resulta significativa la contribución de los iones provenientes del equilibrio de disociación del agua (H^+ y OH^-).

Las aplicaciones prácticas de estas medidas pueden ser agrupadas en dos grupos: (A) conductimetría directa y (B) valoraciones conductimétricas.

A) Conductimetría directa

Se basa en la medida de la conductividad de una muestra, evaluando de esta forma la cantidad global de especies iónicas en disolución. Estas medidas se pueden realizar tanto de manera puntual como en continuo, modalidad esta última de utilidad en el seguimiento de la composición de efluentes y la calidad de procesos industriales.

La falta de selectividad de esta técnica hace que las aplicaciones de este tipo de medidas sean limitadas, aunque de gran importancia tanto a nivel de laboratorio como a nivel industrial.

Ciertos parámetros químicos concretos están directamente relacionados con la conductividad:

- *Sólidos totales disueltos:* en soluciones acuosas la conductividad es directamente proporcional a la concentración de sólidos disueltos, por lo tanto cuanto mayor sea dicha concentración, mayor será la conductividad. De hecho los instrumentos de medida de sólidos totales disueltos en agua se basan en la medida de la conductividad.
- *Salinidad:* es la medida de la concentración de sales disueltas en un agua o presentes en un suelo; se suele medir en unidades de concentración de NaCl. La conductividad eléctrica se puede correlacionar con la salinidad de diferentes tipos de muestras.
- *Dureza del agua:* es posible obtener con muy buena aproximación el valor de la dureza del agua a partir de la medida de la conductividad por medio de la siguiente equivalencia: 1°HTF ≈ 20 μS/cm. Obviamente esta relación es válida en el caso de aguas duras que no hayan sido sometidas a tratamientos de descalcificación, en los que el Ca^{2+} se sustituye por Na^{+}, disminuyendo el grado de dureza con una mínima variación en la conductividad.

A continuación se muestran algunas aplicaciones de la medida de la conductividad en diversos ámbitos:

- Control de la calidad del agua destinada al consumo humano, ya que la conductividad es uno de los parámetros básicos exigidos por la legislación vigente.
- Control de calidad de los procesos de desalinización, tanto a nivel industrial como de laboratorio. Los equipos de desionización que se utilizan en los laboratorios para obtener agua desionizada cuentan con un sistema de medida de la conductividad en continuo para verificar la calidad del agua producida y la necesidad de cambiar o regenerar las resinas de intercambio iónico.
- Control de calidad en la industria alimentaria: vinos, destilados, salmueras, industria azucarera, etc.
- Tratamiento de aguas residuales.
- Control de la concentración de disoluciones ácidas y alcalinas y de la concentración de sales en procesos productivos a nivel industrial.
- Control y diagnóstico de funcionamiento de diversas unidades de proceso industrial: calderas, intercambiadores de calor, torres de refrigeración, humedecedores y condensadores, etc.
- Monitorización de disoluciones que contienen un tipo de electrolito dado; especialmente útil para la cuantificación de electrolitos fuertes que contienen OH^{-} y H^{+}, gracias a la alta conductancia de estos iones.
- Sistema de detección en cromatografía líquida, proporcionando una alta sensibilidad y selectividad de grupo en el caso de compuestos con carga eléctrica.

B) Valoraciones conductimétricas

La conductimetría se puede utilizar para poner de manifiesto el punto final de una valoración, en sustitución de los indicadores visuales, al igual que en el caso de las valoraciones potenciométricas. Para ello se mide la variación de la conductividad de una disolución problema a medida que se añade un agente valorante desde una bureta (figura 4.8).

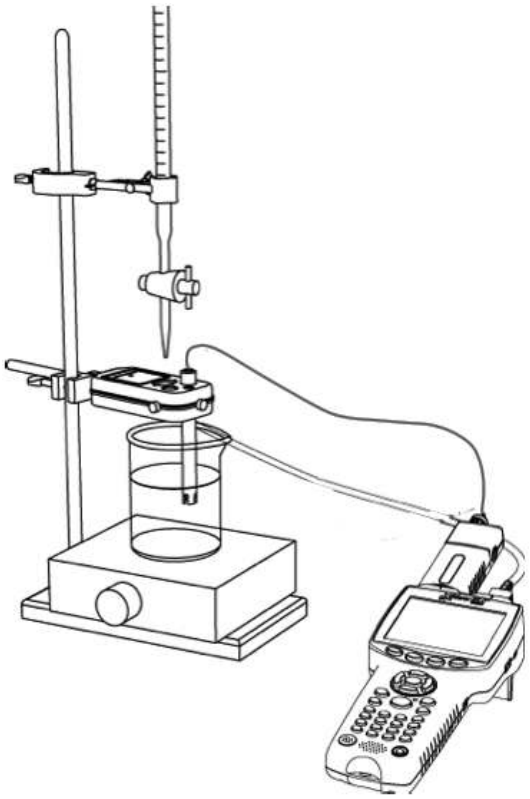


Figura 4.8
Valoración conductimétrica

Las curvas obtenidas en una valoración conductimétrica muestran formas diferentes según la reacción química involucrada, pero en general presentan segmentos rectilíneos con diferente pendiente antes y después del punto de equivalencia. El punto final se obtiene por la intersección de la extrapolación de los mencionados segmentos (figura 4.9).

En este caso no es necesario conocer la conductividad real, por lo que la exactitud de la medida no es esencial. La evolución de la conductividad a lo largo de la valoración se deberá al cambio en la concentración de aquellos compuestos que aporten cargas eléctricas contribuyendo así a la conductividad global.

En las inmediaciones del punto final las curvas de valoración conductimétrica muestran desviaciones de la linealidad; esto se debe a que las reacciones no son absolutamente completas: se ven afectadas por equilibrios de hidrólisis, disociación o solubilidad (figura 4.9). Por este motivo para definir los segmentos lineales de la curva es preferible no contar con las medidas de conductividad realizadas en la inmediación del punto final. En los casos en los que la valoración está basada en equilibrios poco favorables, la detección conductimétrica del punto final es una

alternativa ventajosa a las valoraciones potenciométricas o con indicador visual, en las que la precisión depende de las medidas realizadas en las inmediaciones del punto final.

A lo largo de la valoración la conductividad se verá afectada por un efecto de dilución por la adición del agente valorante, lo que llevará a una disminución continua de la concentración de todas las especies presentes y por tanto de la conductividad. Para minimizar este efecto se aconseja utilizar un agente valorante de una concentración 10 veces mayor a la del analito. En caso necesario se puede realizar la corrección de la conductividad teniendo en cuenta el factor de dilución que corresponde a cada adición de agente valorante (véase ejemplo 2).

- *Ámbito de aplicación de las valoraciones conductimétricas*

Las valoraciones ácido-base se adaptan perfectamente a la detección del punto final mediante esta técnica ya que las especies involucradas, iones H^+ e iones OH^-, presentan los valores más altos de conductividad, por lo que la disminución de uno de ellos antes del punto de equivalencia o el exceso del otro tras dicho punto dará lugar a tramos lineales bien definidos.

También es posible aplicar esta técnica a valoraciones de precipitación o de formación de complejos, aunque menos eficazmente que en el caso de las valoraciones ácido-base, ya que raramente los cambios en la conductancia son tan grandes como los que se observan cuando los iones H^+ u OH^- están involucrados en la reacción. Otros factores que pueden limitar la aplicación de esta técnica son, en el caso de las reacciones de precipitación, la lentitud de la reacción y la coprecipitación.

La aplicación de la conductimetría a las valoraciones redox es muy limitada, ya que estas reacciones se suelen llevar a cabo en medios fuertemente ácidos, con una conductividad de fondo muy alta que enmascara cualquier cambio debido a la reacción química.

Las valoraciones conductimétricas tienen la ventaja de que son aplicables a disoluciones muy diluidas y también a casos en los que la reacción entre analito y valorante sea relativamente incompleta. Resulta un método especialmente valioso para la valoración de disoluciones turbias o fuertemente coloreadas que con frecuencia no pueden ser valoradas con el empleo de indicadores visuales del punto final. En condiciones óptimas el punto final puede localizarse con un error relativo de aproximadamente 0,5%, sin embargo, los resultados son menos exactos a medida que aumenta la concentración de electrolitos en la disolución problema.

En la figura 4.9 aparecen ejemplos de curvas de valoraciones conductimétricas correspondientes a distintas reacciones. La figura 4.9(a) muestra la curva de valoración conductimétrica de un ácido fuerte (HCl) con una base fuerte (NaOH). El tramo lineal descendente antes del punto de equivalencia corresponde a la disminución de la conductividad debida a la neutralización de los protones presentes en la disolución, provenientes de la disociación del ácido clorhídrico; el contraión (Cl^-) aporta una conductividad constante a lo largo de la valoración. Por otro lado, la adición de agente valorante (NaOH) aporta iones Na^+ que incrementan la conductividad linealmente. En el punto de equivalencia todos los protones en disolución han sido neutralizados, por lo que la conductividad presenta un mínimo; la adición posterior de agente valorante da lugar a un aumento de la conductividad debido al aporte lineal de iones hidroxilo. El punto final de la valoración se determina a partir de la intersección de los tramos lineales anterior y posterior a la inflexión de la curva.

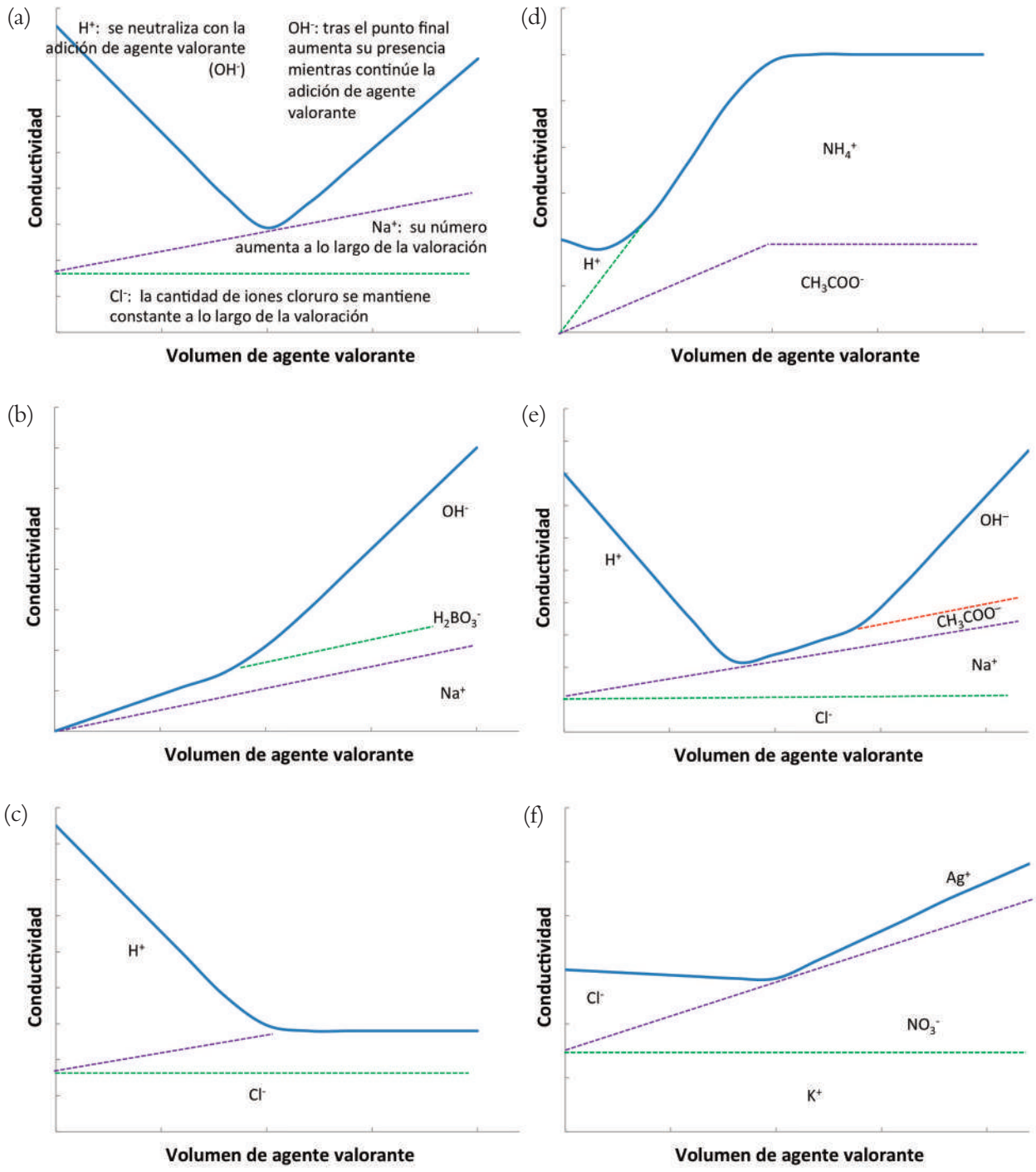


Figura 4.9
Curvas conductimétricas de valoración: (a) ácido fuerte con base fuerte; (b) ácido débil con base fuerte; (c) ácido fuerte con base débil; (d) ácido débil con base débil; (e) mezcla de ácido fuerte y ácido débil con base fuerte; (f) valoración de precipitación: determinación de cloruros por precipitación con plata (argentometría)

EJEMPLO 2

Se desea determinar la concentración de ion sulfato en una muestra de agua mediante una volumetría de precipitación basada en la siguiente reacción:

$$SO_4^{2+} + Pb^{2+} \rightarrow PbSO_4\ (s)$$

Para ello se valora una muestra de agua de 20 mL con una disolución de acetato de plomo de concentración 0,101 M. Se mide la conductividad de la disolución tras cada adición de agente valorante. La siguiente tabla muestra los valores de conductividad obtenidos, así como el factor de dilución tras cada adición y la conductividad corregida con dicho factor (κ').

$V_{añadido}$ (mL)	κ' (µ/cm)	Factor de dilución= $= V_{inic}/(V_{inic} + V_{añad})$	κ (µ/cm) = k/f_{dil}
0	2234	1,000	2234
1	1985	0,952	2085
2	1759	0,909	1935
3	1552	0,870	1785
4	1362	0,833	1635
5	1188	0,800	1485
6	1027	0,769	1335
7	878	0,741	1185
8	740	0,714	1036
9	611	0,690	886
10	491	0,667	736
11	415	0,645	643
12	466	0,625	746
13	568	0,606	937
14	663	0,588	1127
15	753	0,571	1318
16	838	0,556	1508
17	918	0,541	1699
18	994	0,526	1889
19	1067	0,513	2080
20	1135	0,500	2270

En la gráfica de la figura 4.10 se representan la conductividad medida (κ) y la conductividad corregida ($\kappa' = \kappa$/factor de dilución). Se puede apreciar cómo el efecto de la dilución produce una desviación de la conductividad medida que al ser corregida da lugar a segmentos lineales sobre las que es más fácil trazar una recta de regresión.

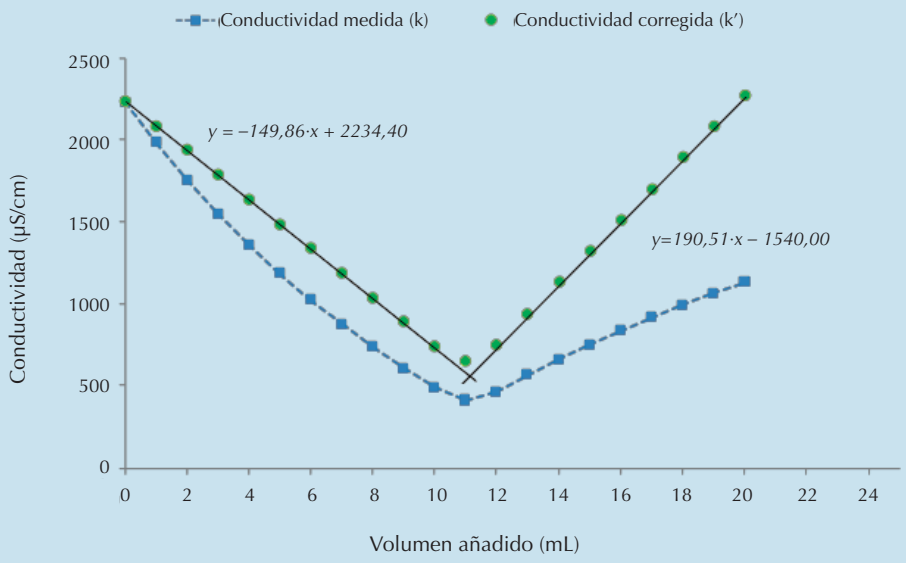


Figura 4.10
Curva de la valoración de SO_4^{2-} por precipitación con Pb^{2+} con determinación conductimétrica del punto final

El punto final se puede determinar gráficamente, a partir de la intersección de las rectas de regresión correspondientes a los dos tramos anterior y posterior al punto final, o bien aritméticamente, resolviendo el sistema de dos ecuaciones de las dos rectas de regresión mencionadas. Obviamente en este caso se consigue una mayor exactitud:

Segmento 1: $y = -149{,}86x + 2234{,}40$

Segmento 2: $y = 190{,}51x - 1540{,}00$

Resolvemos el sistema igualando los segundos términos de cada ecuación:

$$-149{,}86x + 2234{,}40 = 190{,}51x - 1540{,}00$$

$$x = 11{,}09 \text{ mL}$$

$$[SO_4^{2-}] = 11{,}09 \text{ mL} \cdot 0{,}101 \text{ M} / 20{,}00 \text{ mL} = 0{,}056 \text{ M}$$

$$[SO_4^{2-}] = 0{,}056 \text{ M} \cdot 96{,}06 \text{ g/mol} = 5{,}38 \text{ g/L}$$

4.4. Metodología

A) Elección de la celda de conductividad

En primer lugar es conveniente asegurarse que la constante de celda es la adecuada para el intervalo de conductividades en el que se va a utilizar (cuadro 4.2).

B) Calibración

La calibración consiste en ajustar los valores proporcionados por un conductímetro a la conductancia que corresponde a una o a varias disoluciones patrón. El cuadro 4.3 muestra la conductividad de diversas disoluciones patrón a 25 °C.

Si los electrodos no sufren ninguna alteración, la calibración se puede mantener durante largo tiempo, incluso varios meses. Si el grado de precisión exigido a la medida es alto, o las muestras que se analizan pueden producir algún efecto sobre la celda, es conveniente llevar a cabo la calibración con mayor frecuencia. En cualquier caso se puede verificar si la celda está calibrada simplemente midiendo la conductividad de una disolución patrón adecuada y comprobando que la lectura coincide con el valor de la conductividad correspondiente al patrón.

La calibración se puede realizar de diferentes formas, según las posibilidades del conductímetro:

- Calibración en un punto: es aceptable cuando se miden valores de conductividad cercanos a los del patrón que se emplea para la calibración. Es el caso más habitual; se suele utilizar como patrón una disolución de KCl 0,010 M (k = 1413 µS/cm).
- Calibración en dos puntos: es la opción recomendable cuando se quiere mayor precisión en un intervalo concreto de conductividades. Se suelen emplear como patrón disoluciones de KCl de 147 y 1413 µS/cm cuando se va a medir en la zona de bajas conductividades, o bien disoluciones de 1413 µS/cm y 12,88 mS/cm para medir en la zona de conductividad media
- Calibración en tres o más puntos: es la mejor opción cuando las muestras que se analizan presenten conductividades en un amplio rango.

CUADRO 4.3
Conductividad eléctrica de diferentes disoluciones patrón de cloruro de potasio

[KCl] mol/L	$\gamma_{25\,°C}$
0,0005	74 µS/cm
0,001	147 µS/cm
0,005	720 µS/cm
0,01	1413 µS/cm
0,1	12,88 mS/cm
1	111,8 mS/cm

En los conductímetros más sencillos o antiguos es habitual que solo se pueda llevar a cabo la calibración en un único punto, mientras que en los instrumentos más avanzados se puede optar por calibrar con uno, dos o tres patrones. En estos casos el conductímetro ofrece una función para calibrar la celda en la que el propio instrumento solicita los patrones en un orden determinado.

Tanto para realizar la operación de calibración como la medida de la conductividad es necesario leer previamente las instrucciones del fabricante del equipo.

C) Normas básicas de operación

Para realizar tanto la calibración como la lectura de la conductividad en muestras problema se recomienda operar de la siguiente forma:

- Enjuagar tanto el vaso de precipitado como la sonda de conductividad con abundante agua desionizada, y posteriormente con una porción de la muestra que se va a analizar; descartar dicha porción.
- Sumergir la celda en la muestra asegurándose de que los electrodos están totalmente cubiertos y de que no quedan burbujas de aire entre las paredes y los electrodos; si las hubiera, se deben eliminar agitando suavemente.
- Una agitación moderada mejora la rapidez y reproducibilidad de las medidas.
- Enjuagar la celda con abundante agua desionizada entre una muestra y otra.

D) Compensación de la temperatura

La conductividad de una disolución se incrementa con la temperatura; este incremento normalmente se expresa como $\%\cdot K^{-1}$ (porcentaje de variación de la conductividad por grado Kelvin) y se denomina coeficiente de temperatura. Su valor difiere de unas disoluciones a otras; en el caso de disoluciones acuosas su valor está alrededor del 2%·K–1. Esta influencia se explica por el efecto de la temperatura sobre la viscosidad de la disolución, que disminuye con la temperatura, y a través del equilibrio de disociación de los electrolitos presentes en la disolución.

Para que las medidas de conductividad sean comparables es necesario expresar los valores referidos a una temperatura determinada. En la norma UNE EN 27888, referida a la determinación de la conductividad eléctrica como indicador de la calidad del agua, se establece que la temperatura de referencia a la que se debe expresar la conductividad de una muestra es 25 °C.

Es muy habitual que la temperatura a la que se realizan las medidas sea diferente a la de referencia (25 °C); en estos casos es necesario realizar la compensación de la temperatura, es decir, calcular el valor de la conductividad que tendría la muestra a 25 °C (temperatura de referencia). Esta compensación se puede realizar automáticamente por parte del conductímetro si dispone de sonda de temperatura (en la mayor parte de los casos se trata de sondas Pt-100 que pueden ser independientes o venir integradas en la misma celda de conductividad) o bien si se introduce a mano la temperatura a la que se encuentra la muestra (figura 4.11). En caso de que no sea así se debe realizar la compensación mediante factores de corrección apropiados.

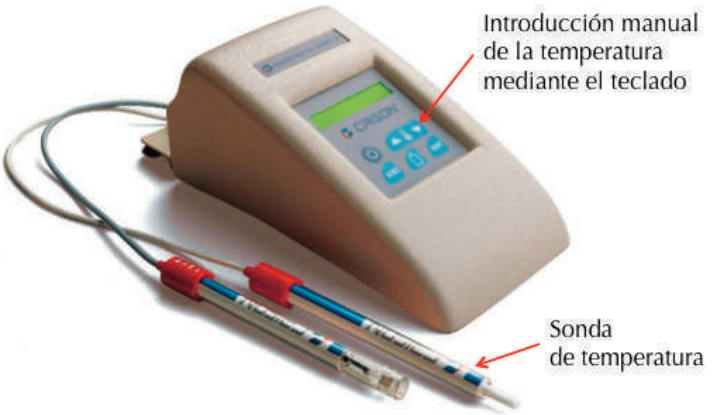


Figura 4.11
Conductímetro con celda de conductividad y sonda para el control automático de temperatura

La norma UNE EN 27888 muestra en una tabla los factores de corrección apropiados para la compensación de la conductividad con la temperatura en el caso de aguas naturales. En el cuadro 4.4 se muestra un extracto de dicha tabla. Hay que tener en cuenta que para otro tipo de muestras los factores de corrección serían diferentes. De la misma forma, estos factores de corrección no se deben aplicar a las disoluciones patrón de cloruro de potasio que se emplean para la calibración de las celdas de conductividad; se recomienda llevar a cabo la calibración a 25 °C, lo cual se puede conseguir con ayuda de un baño termostático, o al menos utilizar las tablas de corrección de la conductividad que corresponden a las disoluciones patrón que se empleen y que suele proporcionar el fabricante. En determinados casos la corrección de la conductividad con la temperatura puede ser innecesaria. Así ocurre por ejemplo en el caso de las valoraciones conductimétricas, en las que se mide la conductividad de la muestra mientras se añade agente valorante, y en las que no interesa tanto el valor exacto de la conductividad en cada punto como su variación.

EJEMPLO 3

Ejemplo de compensación mediante factor de corrección

Una determinada muestra de agua natural presenta una conductividad de 318 µS/cm medida a 21,1 ºC. Expresa correctamente la conductividad de dicha muestra.

El factor de corrección de la conductividad en aguas naturales a 21,1 ºC es de 1,088 (cuadro 4.4).

$$\gamma_{25^{\circ}C} = 318\mu S/cm \cdot 1{,}088 = 346\mu S/cm$$

Además, en la citada norma se establece que cuando la conductividad se ha medido a una temperatura diferente de 25 ºC, debe indicarse el método utilizado para la corrección de la conductividad (corrección matemática o corrección mediante compensación automática de temperatura), junto a la temperatura a la que se ha llevado a cabo la medida. En el caso del ejemplo la expresión completa de la conductividad sería así:

$\gamma_{25^{\circ}C} = 346\mu S/cm$
Temperatura de medida: 21,1ºC
Corrección matemática

En cualquier caso, sea cual sea el sistema de corrección de la conductividad con la temperatura, los resultados serán menos exactos que si la medida se realiza a la temperatura de referencia.

En determinados casos, la corrección de la conductividad con la temperatura puede ser innecesaria. Así ocurre por ejemplo en el caso de las valoraciones conductimétricas, en las que se mide la conductividad de la muestra mientras se añade agente valorante, y en las que no interesa tanto el valor exacto de la conductividad en cada punto, como su variación.

CUADRO 4.4
Factor de corrección de temperatura para la conversión de la conductividad de T a 25 °C en aguas naturales

T (ºC)	,0	,1	,2	,3	,4	,5	,6	,7	,8	,9
20	1,116	1,113	1,111	1,108	1,105	1,103	1,101	1,098	1,096	1,093
21	1,091	1,088	1,086	1,083	1,081	1,079	1,076	1,074	1,071	1,069
22	1,067	1,064	1,062	1,060	1,057	1,055	1,053	1,051	1,048	1,046
23	1,044	1,041	1,039	1,037	1,035	1,032	1,030	1,028	1,026	1,024
24	1,021	1,019	1,017	1,015	1,013	1,011	1,008	1,006	1,004	1,002
25	1,000	0,998	0,996	0,994	0,992	0,990	0,987	0,985	0,983	0,981
26	0,979	0,977	0,975	0,973	0,971	0,969	0,967	0,965	0,963	0,961
27	0,959	0,957	0,955	0,953	0,952	0,950	0,948	0,946	0,944	0,942
28	0,940	0,938	0,936	0,934	0,933	0,931	0,929	0,927	0,925	0,923
29	0,921	0,920	0,918	0,916	0,914	0,912	0,911	0,909	0,907	0,905
30	0,903	0,902	0,900	0,898	0,896	0,895	0,893	0,891	0,889	0,888

E) Cuidados y mantenimiento de la sonda de conductividad

Las sondas de conductividad son instrumentos robustos que pueden llegar a tener una vida útil prolongada si se lleva a cabo un mantenimiento y cuidados adecuados:

- Se deben inspeccionar visualmente los electrodos para verificar que no hay depósitos, manchas o daños en su superficie.
- Se debe evitar la limpieza mecánica de la celda, así como su contacto con agentes agresivos o abrasivos que pudieran producir variaciones en su superficie.
- Los depósitos de suciedad (grasa, polvo) pueden dar lugar a lecturas erróneas, por lo que deben eliminarse mediante una limpieza suave con algún material no abrasivo, aclarando posteriormente con agua desionizada.
- Se debe calibrar el instrumento después de cualquier proceso de limpieza. Para ello se deben utilizar disoluciones patrón de conductividad conocida y certificada.
- Durante periodos breves entre medidas la sonda de conductividad se puede mantener sumergida en agua desionizada. Para su almacenamiento durante periodos prolongados se debe mantener seca en su estuche.
- En cualquier caso se deben leer y aplicar las instrucciones del fabricante.

Resumen

La conductimetría se basa en la medida de la conductividad que presenta una disolución al paso de la corriente eléctrica, debida a la migración de los iones en el campo eléctrico. La movilidad de los iones viene definida por su carga y tamaño, la viscosidad de la disolución (influida por la temperatura) y la magnitud del potencial eléctrico aplicado.

Se trata de una técnica de análisis de selectividad nula, ya que responde globalmente a la presencia de todos los iones presentes en la disolución, pero de gran utilidad en determinados ámbitos, tanto en el laboratorio como en la industria química.

La conductimetría es una técnica económica y robusta, sin apenas mantenimiento, que permite medidas rápidas del contenido iónico global de una disolución, una fácil adaptación al análisis rápido de efluentes, así como a la determinación del punto final en valoraciones, especialmente en las basadas en reacciones ácido-base. Asimismo, la conductividad se puede relacionar con determinados parámetros químicos como la salinidad, la dureza y el contenido de sólidos totales disueltos en agua.

Práctica n.º 4

Conductimetría directa

Objetivo	Manejo básico del conductímetro: calibración del instrumento y medidas puntuales de la conductividad de diversas muestras.
Procedimiento	1. Leer atentamente las instrucciones del conductímetro suministradas por el fabricante para la puesta en marcha del instrumento y la calibración de la celda de conductividad. Observar las normas básicas de funcionamiento, así como las relativas al cuidado y mantenimiento de la sonda de conductividad. 2. Seguir el procedimiento especificado en la norma UNE-EN 27888 para la determinación de la conductividad eléctrica en aguas: – Agua del grifo. – Agua destilada / desionizada; se pueden tomar muestras del depósito donde se almacene o directamente a la salida del destilador/desionizador para observar posibles diferencias. – Agua residual. – Diferentes disoluciones acuosas. 3. Expresar correctamente el resultado obtenido para cada una de las muestras.

Práctica n.º 5

Valoración conductimétrica: Determinación del grado de acidez de un vinagre mediante una volumetría ácido-base

Objetivo	Aplicación de la conductimetría a la determinación del punto final en una volumetría ácido-base.
Fundamento	Como se ha visto anteriormente, la determinación conductimétrica del punto final es especialmente útil en el caso de valoraciones de muestras coloreadas, como puede ser el caso de algunos vinagres. Se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones: • El grado de acidez de un vinagre equivale a gramos de ácido acético por 100 mL. Los valores típicos oscilan alrededor de 5-6º de acidez, por lo que es necesario realizar una dilución adecuada de la muestra antes de proceder a la valoración. El peso molecular del ácido acético es de 60 g/mol. • Como agente valorante se debe utilizar una base fuerte como es una disolución de NaOH; la reacción de neutralización es la siguiente: $CH_3–COOH + NaOH \rightarrow CH_3–COO^- + Na^+ + H_2O$ • La concentración de la disolución de NaOH debe ser la adecuada teniendo en cuenta el volumen de las buretas disponibles y que el punto final debe alcanzarse con la adición de aproximadamente la mitad del volumen de la bureta, para así contar con tramos lineales suficientemente prolongados antes y después de dicho punto; así, por ejemplo, con una bureta de 25 mL es conveniente alcanzar el punto final con la adición de 10-12 mL.
Procedimiento	1. Calcular la dilución de la muestra y la concentración de la disolución de NaOH necesaria para llevar a cabo la valoración. 2. Preparar una disolución de NaOH de una concentración aproximada a la calculada y estandarizar frente al patrón primario correspondiente para determinar con exactitud su concentración. 3. Realizar la dilución adecuada de la muestra de vinagre y tomar el volumen necesario para llevar a cabo la valoración con la disolución de NaOH estandarizada. 4. Comprobar la calibración de la sonda de conductividad, y calibrar si es necesario. 5. Sumergir la sonda de conductividad en el volumen adecuado de muestra contenida en un vaso de precipitado; es conveniente realizar las medidas de conductividad con una agitación suave, por lo que se recomienda el uso de un agitador automático. 6. Anotar la conductividad tras la adición de agente valorante desde la bureta en incrementos constantes, de forma que se disponga de suficientes puntos para definir los tramos lineales antes y después del punto de equivalencia. 7. Determinar el volumen correspondiente al punto final de la valoración a partir de la intersección de los tramos lineales obtenidos y calcular el grado de acidez de la muestra de vinagre.

Práctica n.º 6

Determinación de la salinidad de una muestra de agua

Objetivo	Relacionar la conductividad con un parámetro químico como es la salinidad, a través de una recta de calibrado preparada con disoluciones patrón de NaCl.
Procedimiento	1. Preparar una disolución patrón concentrada de NaCl y a partir de ella varias disoluciones patrón más diluidas. Se debe tener en cuenta que la solubilidad del NaCl es de 35,9 g por 100 mL de agua (a 20 ºC). 2. Comprobar la calibración de la sonda de conductividad, y calibrar si es necesario. 3. Medir la conductividad de cada una de las disoluciones patrón preparadas, incluyendo un blanco. 4. Preparar una recta de calibrado conductividad-salinidad (concentración de NaCl). 5. A partir de la ecuación de la recta de calibrado se puede determinar la salinidad de diversas muestras de agua.
Nota	La recta de calibrado presentará una desviación negativa de la conductividad a altas concentraciones salinas (ver figura 4.3), por lo que se debe limitar el intervalo de trabajo al tramo lineal.



Ejercicios propuestos

1. Calcula la conductividad aproximada de las siguientes disoluciones:
   a) HCl 0,1 M
   b) NaOH 0,1 M
   c) NaCl 0,1 M
   d) Na_2SO_4 0,1 M
2. La medida de la conductividad de una muestra de agua mineral a 21,5 ºC proporciona un valor de 512 µS/cm. Expresa correctamente la conductividad de esta muestra según los requisitos de la norma UNE-EN 27888.
3. Se pretende determinar la concentración de un ácido débil, como es el ácido bórico (H_3BO_3), mediante una volumetría ácido-base empleando hidróxido de sodio como agente valorante:

$$H_3BO_3 + NaOH \rightarrow H_2BO_3^- + Na^+ + H_2O$$

El volumen de muestra analizado es de 25 mL y la concentración de la disolución patrón de NaOH utilizada es de 0,098 M.

Determina el punto final de la valoración y calcula la concentración de dicho ácido en la muestra problema a partir de los siguientes datos de conductividad frente a volumen de agente valorante:

Volumen de NaOH añadido	Conductividad (µS/cm)
0	223
3	506
6	909
9	1268
12	1604
15	2100
18	3030
21	3910
24	4730

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. ¿En qué unidades se mide habitualmente la conductividad?:
   - ☐ *a)* mS.
   - ☐ *b)* mS·cm.
   - ☐ *c)* mS/cm.
2. Una de las aplicaciones básicas de la conductimetría que se puede encontrar en los laboratorios de análisis es:
   - ☐ *a)* La caracterización de los residuos generados en el laboratorio.
   - ☐ *b)* El control de calidad de los equipos para la obtención de agua desionizada.
   - ☐ *c)* La detección del punto final en valoraciones redox.

3. ¿Qué disoluciones patrón se emplean habitualmente para la calibración de las sondas de conductividad?:

   ☐ *a)* Disoluciones de ftalato ácido de potasio.
   ☐ *b)* Disoluciones de hidróxido de sodio.
   ☐ *c)* Disoluciones de cloruro de potasio.

4. ¿Qué parámetros químicos se pueden relacionar directamente con la conductividad de una muestra de agua?:

   ☐ *a)* Demanda química de oxígeno.
   ☐ *b)* Composición.
   ☐ *c)* Dureza.

5. Indica en cuál de las siguientes volumetrías se puede determinar el punto final mediante conductimetría:

   ☐ *a)* Determinación de la alcalinidad de una muestra mediante la valoración con ácido clorhídrico.
   ☐ *b)* Determinación del índice de permanganato (permanganimetría).
   ☐ *c)* Determinación de azúcares reductores mediante dicromatometría.

6. ¿Qué afirmación es cierta en relación con la selectividad que ofrece la conductimetría?:

   ☐ *a)* Es una técnica no selectiva ya que la conductividad de una disolución depende básicamente de la presencia de compuestos con carga eléctrica.
   ☐ *b)* Es una técnica muy selectiva ya que determinados iones conducen la corriente eléctrica mucho mejor que otros.
   ☐ *c)* Es una técnica específica para la determinación del punto final en valoraciones ácido-base.

SOLUCIONES:

1. a b **c**	**3.** a b **c**	**5.** **a** b c
2. a **b** c	**4.** a b **c**	**6.** **a** b c

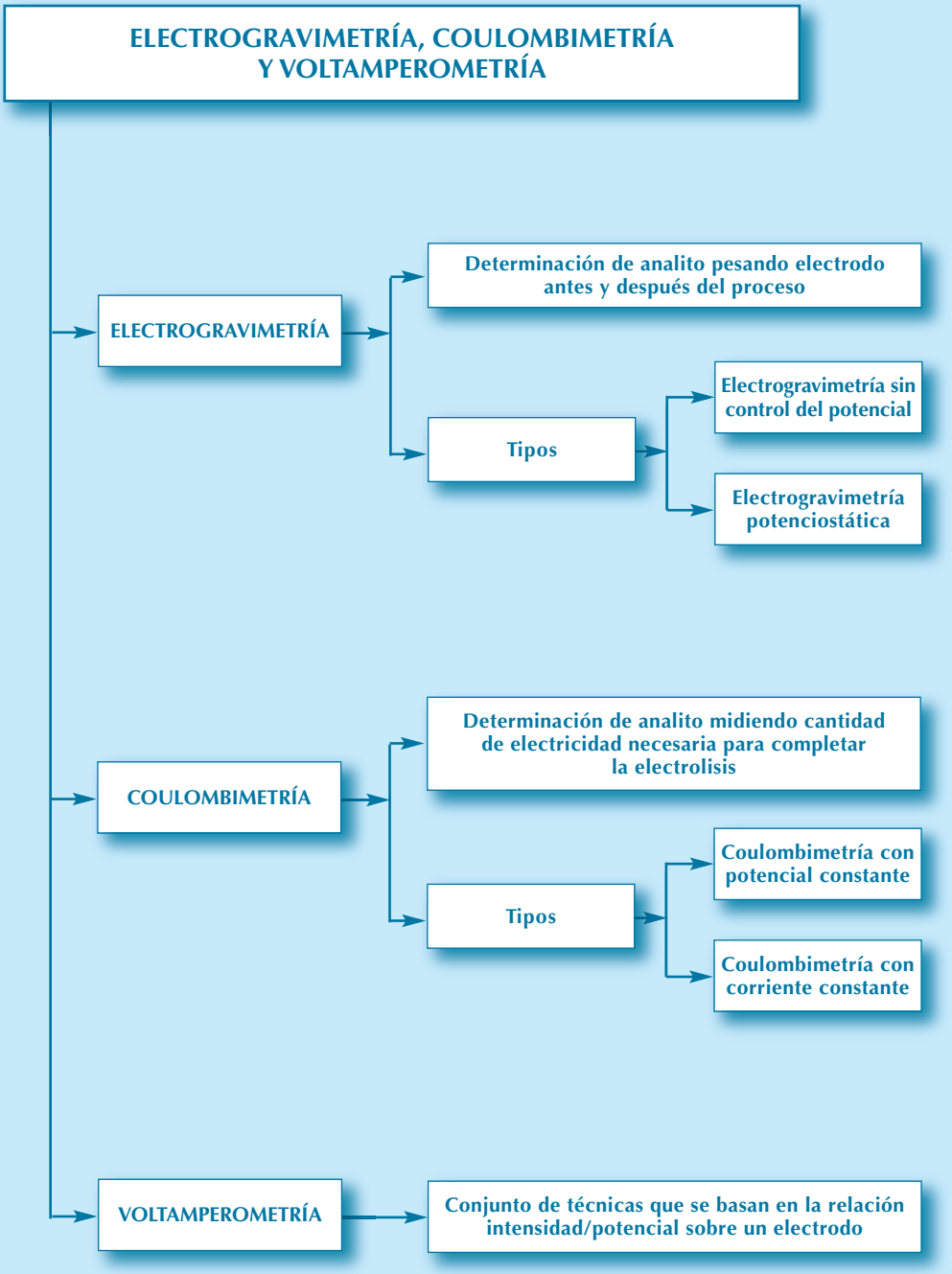
5

Electrogravimetría, coulombimetría, y voltamperometría

Objetivos

1. Conocer los fundamentos básicos de la electrogravimetría y coulombimetría, así como las características analíticas de ambas técnicas.
2. Comprender la base de la voltamperometría y las características analíticas de la técnica.
3. Conocer la instrumentación requerida para la electrogravimetría, coulombimetría y voltamperometría.
4. Aprender el manejo de los equipos de electrolisis.
5. Saber realizar determinaciones electrogravimétricas, coulombimétricas y voltamperómetricas.
6. Obtener y expresar adecuadamente un resultado analítico a partir de las técnicas electroquímicas de este capítulo.

Mapa conceptual del capítulo


ELECTROGRAVIMETRÍA, COULOMBIMETRÍA Y VOLTAMPEROMETRÍA
ELECTROGRAVIMETRÍA
Determinación de analito pesando electrodo antes y después del proceso
Tipos
Electrogravimetría sin control del potencial
Electrogravimetría potenciostática
COULOMBIMETRÍA
Determinación de analito midiendo cantidad de electricidad necesaria para completar la electrolisis
Tipos
Coulombimetría con potencial constante
Coulombimetría con corriente constante
VOLTAMPEROMETRÍA
Conjunto de técnicas que se basan en la relación intensidad/potencial sobre un electrodo

Glosario

Amalgama. Disolución metálica de mercurio y otro metal.

Carbón vítreo. Es una clase de carbono no grafitizante, que es usado ampliamente como material para electrodos en electroquímica. Su preparación implica someter a los precursores orgánicos a una serie de fuertes tratamientos térmicos. Es impermeable a los gases, extremadamente inerte y altamente resistente al ataque por ácidos.

Coulombio o culombio. Es la cantidad de carga que es transportada en un segundo por una corriente constante de un amperio.

Grafito pirolítico. Carbono que se produce como depósito sobre una superficie, por descomposición térmica de hidrocarburos gaseosos. Posee una estructura cristalina fuertemente orientada, siendo las propiedades del material en el plano paralelo a la superficie en la que fue depositado como las de un metal.

Eficacia de corriente. Porcentaje de la corriente que verdaderamente produce la oxidación o reducción del analito.

Electrodeposición. Procedimiento electroquímico mediante el cual se recubre una pieza con una capa de metal.

Número de Avogadro. Número de entidades elementales (átomos, iones, moléculas) que existen en un mol de cualquier sustancia.

5.1. Introducción

La electrogravimetría y la coulombimetría son técnicas electroanalíticas que se basan en la oxidación o reducción electrolítica de un analito durante un tiempo suficiente para asegurar su conversión cuantitativa a un estado de oxidación diferente. En la técnica electrogravimétrica se determina la masa del producto de la electrolisis que se deposita en uno de los electrodos, conociendo así directamente la cantidad que había del mismo en la disolución de partida. En la coulombimetría, se mide la cantidad de electricidad necesaria para completar la electrolisis, y dicha magnitud se relaciona directamente con la cantidad de analito presente.

Estos dos métodos, a diferencia de la mayoría de las técnicas instrumentales, no requieren calibración respecto a patrones, es decir, la relación funcional entre la cantidad medida y la masa de analito se puede deducir de la teoría. Se trata por tanto de técnicas absolutas desde el punto de vista de la trazabilidad, ya que sólo requieren de una calibración directa de los instrumentos que se emplean.

La voltamperometría es otra técnica electroanalítica, en la que se hace uso de las curvas corriente/potencial obtenidas mediante electroanálisis en una celda. Pero a diferencia de las técnicas anteriores, no se persigue la transformación cuantitativa de ningún ion. Será el estudio de las curvas lo que aportará la información cualitativa y cuantitativa del analito.

5.2. Electrogravimetría

5.2.1. Fundamento

La gravimetría es un procedimiento de análisis en el cual, partiendo de un sólido, un líquido o un gas, se llega al final a una forma pesable.

La medida que caracteriza a los métodos gravimétricos es la de la masa, magnitud carente de toda selectividad, ya que la poseen todas las especies químicas, lo que hace necesario efectuar separaciones lo más perfectas posibles. El análisis gravimétrico consiste, pues, en separar y pesar, en el estado de mayor pureza, un elemento o compuesto de composición conocida que se encuentra en una relación estequiométrica definida con la sustancia que se determina.

Las gravimetrías se clasifican según la forma de aislar los productos pesables. Las más generales son:

a) *Gravimetrías por precipitación*: el constituyente buscado se separa en forma de sustancia insoluble, que se pesa directamente o bien se transforma cuantitativamente en otra sustancia que se pesa.

b) *Gravimetrías por volatilización*: el constituyente buscado o el que se trata de eliminar se volatiliza. El método puede ser a su vez:

- Directo: la sustancia volatilizada se recoge y se pesa.
- Indirecto: se pesa la sustancia de partida, P, se efectúa la volatilización y se pesa el residuo, P'. Si interesa el residuo, su masa es P'. Si interesa la sustancia volatilizada su masa es $P–P'$.

c) *Gravimetrías por electrolisis o electrogravimetrías*: la sustancia que se ha de determinar se somete a un proceso de electrolisis y el producto se deposita cuantitativamente sobre uno de los dos electrodos que conforman un circuito eléctrico, que se pesa antes y después del proceso. El incremento de masa del electrodo se utilizará para calcular la cantidad de analito que estaba presente inicialmente.

La electrogravimetría se basa por tanto en la electrolisis, que es el proceso en el que una reacción redox se realiza en el sentido no espontáneo debido a la aplicación de una corriente eléctrica. Por ejemplo, la siguiente reacción

$$Pb^{2+} + 2H_2O \leftrightarrows PbO_2(s) + H_2(g) + 2H^+$$

tiene un potencial estándar de –1,455 V, lo cual significa que es espontánea hacia la izquierda, no hacia la derecha. Si se desea impulsar esta reacción hacia la derecha en una disolución que contiene concentraciones estándar, se predice que debe aplicarse una diferencia de potencial mayor de 1,455 V a la disolución, para que la reacción anterior se realice en el sentido indicado.

En la práctica, se detecta que es necesario aplicar siempre un potencial mayor al que necesita la reacción para transcurrir de forma no espontánea. Existen para ello al menos tres razones:

a) *Resistencia de la celda*: toda celda presenta cierta resistencia eléctrica al paso de la corriente. Es necesario por tanto aplicar un potencial adicional para que circule la corriente por la celda. Este potencial se denomina caída óhmica de potencial o potencial óhmico y se expresa mediante la ley de Ohm:

$$E_{óhmico} = I \cdot R$$

donde I es la corriente y R es la resistencia de la celda.

En una celda galvánica en equilibrio no hay caída óhmica de potencial, debido a que $I = 0$. Cuando la celda suministra corriente, su potencial decrece debido a que una parte de la energía libre generada por la reacción química se requiere para vencer la resistencia de la celda misma. Por el contrario, en una celda electrolítica la diferencia de potencial aplicada debe ser suficiente para proporcionar la energía libre que requiere la reacción química y para vencer la resistencia de la celda.

Por tanto, y en ausencia de otros efectos, el potencial de una celda galvánica se encuentra disminuido en una cantidad igual a $I \cdot R$, y la magnitud del potencial aplicado en una electrolisis debe incrementarse en una cantidad igual a $I \cdot R$ para que la corriente siga circulando. Por convenio, se atribuye signo negativo al potencial aplicado a una celda electrolítica.

b) *Polarización de concentración:* si se considera en general un ánodo de un metal cualquiera, *M*, tenemos que, según la reacción:

$$M(s) \leftrightarrows M^{n+} + ne^-$$

Se liberan iones metálicos en la capa de disolución que está en contacto directo con el electrodo. Si estos iones difunden o son transportados con rapidez lejos del electrodo por agitación, la concentración de iones metálicos será la misma en cualquier punto de la disolución.

Ahora bien, si por cualquier circunstancia está difusión no se produce, habrá mayor concentración de iones metálicos en la vecindad inmediata del electrodo, denominada capa de difusión. El potencial depende de la concentración en esta capa, y, por tanto, si en su cálculo teórico se toma la concentración de la disolución, se estará cometiendo un error.

Cuando existe esa diferencia de concentraciones entre la superficie del electrodo y la disolución, se dice que existe una polarización de concentración. El potencial del ánodo se hace más positivo (según la ley de Nernst), y por tanto, el potencial de celda disminuye ($E = E_{cátodo} + E_{ánodo}$).

En una celda galvánica, esta polarización reduce el potencial que se esperaría en su ausencia. En la electrolisis se invierte: se hará necesario aplicar una diferencia de potencial mayor (más negativa, por convenio) que la requerida en ausencia de polarización.

Para reducir la polarización de concentración se puede:

- Asegurar una agitación eficiente.
- Incrementar la temperatura.
- Aumentar la superficie del electrodo.
- Cambiar la fuerza iónica. Al aumentar la fuerza iónica, disminuyen las fuerzas electrostáticas entre los iones reactivos y el electrodo.

c) *Polarización cinética*: incluso en ausencia de polarización de concentración y cuando se toma en cuenta la caída óhmica de potencial, los potenciales de algunas celdas electro-

químicas siguen presentando valores inesperados. Este sobrepotencial está relacionado con la mayor o menor facilidad que pueden tener las especies electroactivas de reaccionar sobre los electrodos y se requiere para vencer la barrera de la energía de activación de la reacción que se vaya a producir. Este fenómeno está presente especialmente cuando están implicados productos gaseosos.

La diferencia entre el potencial esperado y el potencial que realmente se aplica, una vez tenida en cuenta la caída óhmica de potencial se denomina sobrepotencial y puede deberse a la polarización de concentración y la polarización cinética fundamentalmente.

Resumiendo los tres efectos:

$$E_{aplicado} = E_{cat} - E_{an} - IR - sobrepotencial$$

EJEMPLO 1

En una celda tiene lugar la siguiente reacción:

$$Cd(s) + 2\,AgCl(s) \leftrightarrows Cd^{2+} + 2Ag(s) + 2Cl^-$$

La celda tiene una resistencia de 6,42 Ω, y se obtiene una corriente de 28,7 mA.

a) ¿Cuál será el potencial de la celda?

b) ¿Qué potencial se debe aplicar para que la misma celda opere como una celda electrolítica? Suponer ausencia de polarización.

Las semirreacciones que tienen lugar son:

• Ánodo:	$Cd(s) \rightarrow Cd^{2+} + 2e^-$	E^0:–0,40
• Cátodo:	$AgCl(s) + e^- \rightarrow Ag(s) + Cl^-$	E^0: 0,22

Conociendo los potenciales normales de estas semirreacciones, el potencial de la reacción será:

$$E = E_{cat} - E_{an}$$

$$E = 0,22 - (-0,40) = 0,62\ V$$

Como celda galvánica, este potencial se verá disminuido por la caída óhmica de potencial en $I \cdot R$:

$$E = 0,62V - 6,42\ \Omega \cdot 28,7 \cdot 10^{-3}A = 0,440\ V$$

Para que la misma celda opere como celda electrolítica, el potencial a aplicar será:

$$E = -0,62V - 6,42\ \Omega \cdot 28,7 \cdot 10^{-3}A = -0,804\ V$$

Cabe resaltar que el *valor del potencial* de la celda galvánica *disminuye* debido al potencial óhmico. El *valor del potencial* de electrolisis *aumenta* debido al potencial óhmico. El potencial de la celda galvánica tiene signo positivo, y el potencial de la celda de electrolisis tiene signo negativo.

5.2.2. Instrumentación

Se encuentran disponibles comercialmente una gran variedad de equipos de electrogravimetría, constituidos generalmente por una fuente de corriente continua, una resistencia variable, un voltímetro para medir el potencial y un amperímetro para medir la intensidad, y una celda o cubeta para electrólisis con sus respectivos electrodos. Además se complementan con algún medio para la agitación (magnético o mecánico) y calentamiento de la disolución (figura 5.1).

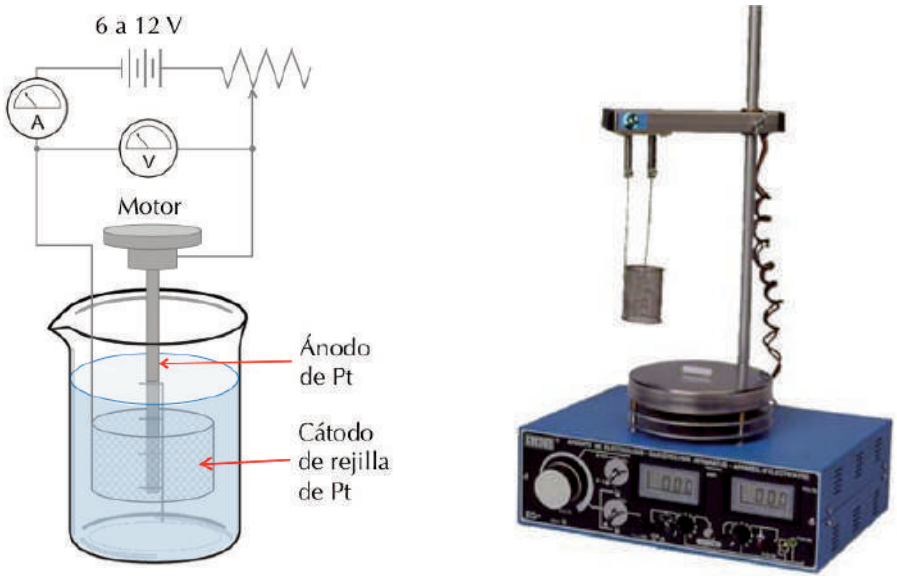


Figura 5.1
Esquema y aparato para electrogravimetría (cortesía de SBS)

Los electrodos son usualmente de platino, aunque, con las debidas precauciones, pueden usarse también electrodos de cobre, latón, acero inoxidable, grafito y otros metales. Los electrodos de platino tienen la ventaja de ser relativamente no reactivos y pueden ser calcinados para eliminar materia orgánica, residuos o gases que tendrían efectos perjudiciales sobre las propiedades físicas del depósito. Hay ciertos metales, como bismuto, zinc y galio, que no pueden ser depositados directamente sobre platino ya que causan un deterioro permanente en el electrodo. El platino debe ser protegido siempre con una capa de cobre electrodepositada antes de realizar la electrólisis de esos metales. Igualmente, el platino no debe ser usado como ánodo en disoluciones que contengan altas concentraciones de ion cloruro, porque puede desprenderse cloro en lugar de oxígeno y producirse la oxidación del electrodo. Para usar un ánodo de platino en estas condiciones debe ser protegido mediante la utilización de un despolarizador.

PARA SABER MÁS

Despolarizador

Un despolarizador es un compuesto que se reduce o se oxida fácilmente y estabiliza el potencial de un electrodo de trabajo al disminuir la polarización por concentración. Se añade a una celda electrolítica para impedir que el potencial catódico o anódico aumente demasiado, evitando así reacciones de interferencia que pudieran presentarse en condiciones más reductoras u oxidantes.

Un despolarizador catódico, por ejemplo, evita la codeposición de hidrógeno durante la electrolisis. La presencia del gas en el electrodo haría que se formasen depósitos no adherentes, pudiéndose perder parte del mismo, y produciéndose un error por defecto. El despolarizador se reduce a un potencial menos negativo que el ion H_3O^+ y sus productos de reacción no tienen efectos adversos sobre las propiedades físicas del depósito.

El ion nitrato es útil como despolarizador catódico. La hidracina y la hidroxilamina son despolarizadores aniónicos que se usan también con frecuencia.

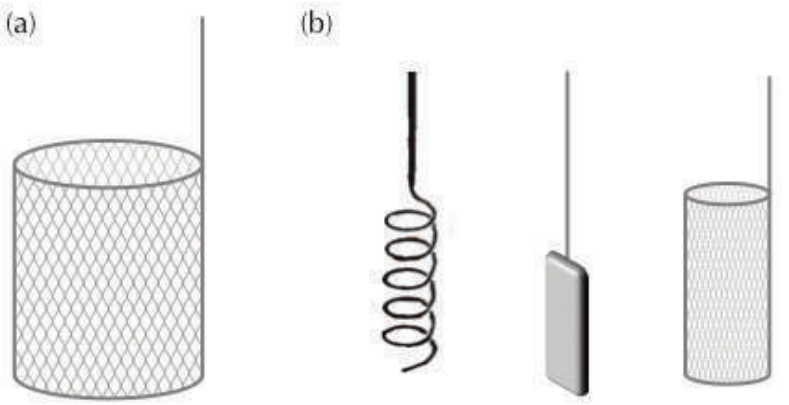


Figura 5.2
(a) Cátodo de rejilla de Pt; (b) ánodos de Pt: alambre en espiral, paleta y rejilla

En cuanto a la forma de los electrodos, los cátodos están formados comúnmente por cilindros en malla, de 2 a 3 cm de diámetro y unos 6 cm de altura. Esta construcción reduce al mínimo los efectos de la polarización, suministrando una gran área superficial en la cual la disolución puede circular libremente. Los ánodos pueden ser serpentines de alambre, una paleta de platino, o un segundo electrodo de tela metálica con diámetro menor al del cátodo, los cuales pueden incluso ser accionados por un motor para producir una agitación efectiva del electrolito.

La celda de electrolisis es con frecuencia un vaso de vidrio de forma alta, que conviene que permanezca cubierto (permitiendo la introducción de los electrodos), para excluir la suciedad y minimizar la pérdida de disolución durante la electrolisis.

Existen dos formas de llevar a cabo la electrogravimetría, que van a condicionar la instrumentación que se vaya a utilizar:

a) *Electrogravimetría sin control de potencial*. En esta modalidad no se ejerce ningún control sobre el potencial del electrodo de trabajo. El potencial de celda aplicado se mantiene en un nivel más o menos constante generándose suficiente corriente para completar la electrolisis en un tiempo razonable. El equipo para llevar a cabo esta modalidad es sencillo y

barato, pero las aplicaciones se limitan a la separación de un catión fácilmente reducible, de otro u otros que sean más difíciles de reducir que el ion H_3O^+: según avanza la electrodeposición, el potencial del cátodo va a ir aumentando, por efecto de la polarización por concentración y llega un momento en que comenzaría la reducción del ion H_3O^+. Los cationes presentes que se reduzcan antes que este ion no podrían separarse, porque empezarían a reducirse y a codepositar antes de que haya acabado la electrodeposición completa del catión que se pretende separar.

Los elementos que se determinan con este procedimiento son, entre otros, plata, cadmio, cobre, níquel y zinc.

b) *Electrogravimetría potenciostática*. En esta modalidad el potencial del electrodo de trabajo se mantiene a un nivel constante frente a un electrodo de referencia. Es una técnica muy útil para separar especies con potenciales de electrodo que difieren únicamente en unas cuantas décimas de voltio. Por ejemplo, cobre, bismuto, plomo, cadmio, zinc y estaño pueden determinarse en mezclas por deposición sucesiva de los metales sobre un cátodo de platino previamente pesado.

Como contrapartida, se hace necesario un equipo más sofisticado, concretamente un potenciostato (ver "Para saber más" a continuación).

PARA SABER MÁS

Potenciostato

Un potenciostato está constituido por tres electrodos: ánodo, cátodo (uno de ellos será el electrodo de trabajo y el otro el electrodo auxiliar, según los casos) y un electrodo de referencia que se conecta al de trabajo y cuya función es mantener constante el potencial de éste para evitar interferencias (figura 5.3).

El sistema consta de dos circuitos:

- *Circuito de control o referencia:* formado por electrodo de trabajo y de referencia más un voltímetro digital de alta resistencia. La elevada resistencia del circuito hace que sea el circuito electrolítico el que aporte la mayoría de la intensidad de corriente.
- *Circuito electrolítico:* consta del electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar o contraelectrodo, más un amperímetro y una fuente de voltaje con reostato.

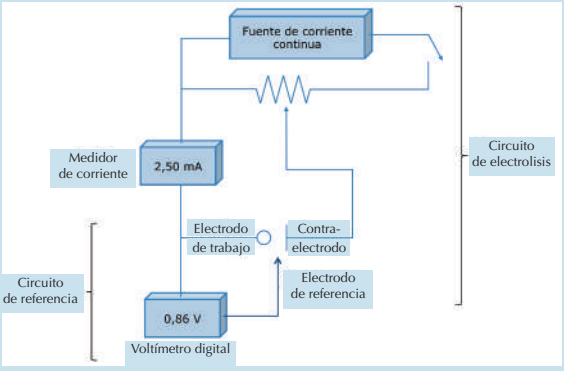


Figura 5.3 Esquema de un potenciostato

5.2.3. Características analíticas y aplicaciones

El análisis electrogravimétrico, en general, posee una moderada selectividad, sensibilidad y rapidez; en muchos casos está entre las técnicas más exactas y precisas. A diferencia de otras técnicas instrumentales, no requiere calibración respecto a patrones ya que la relación funcional entre la cantidad medida y la masa de analito se puede deducir por cálculos teóricos.

Este método es muy utilizado en la determinación de metales de transición. Generalmente estas determinaciones se realizan mediante la reducción del analito, que se deposita sobre el cátodo en su estado metálico. Como excepciones se pueden señalar la determinación de Pb, que se deposita en el ánodo como PbO_2, o la determinación de Cl que se deposita como AgCl sobre un ánodo de Ag.

Para otras aplicaciones, debido a su limitada sensibilidad y al tiempo que se requiere para el lavado, secado y pesado de los electrodos, muchos métodos electrogravimétricos han sido reemplazados por los métodos coulombimétricos.

Otra aplicación de importancia de esta técnica se basa en la eficiencia que presenta como método en la obtención de metales puros a partir de sus disoluciones, permitiendo la eliminación de impurezas o contaminantes.

Además de la aplicación de esta técnica con fines analíticos, la electrodeposición es muy utilizada en la industria de los recubrimientos electrolíticos (cobrizado, niquelado, cromado, plateado, zincado, aureado, latonado, etc.), que permiten proteger y dar mejor presentación a artículos elaborados con materiales que expuestos al medio ambiente se oxidan con facilidad. Así por ejemplo, se recubren parachoques de camión con cromo, piezas de joyería con metales preciosos, etc.

PARA SABER MÁS

Fabricación de las estatuillas de los Óscar

Cada estatuilla se realiza con una aleación de estaño, cobre y antimonio. A continuación la figura es recubierta con cobre por electrodeposición, y se le aplica una siguiente capa con níquel, también electrolíticamente, para sellar los poros. Después viene un enchapado de plata, para permitir la adherencia correcta de la última capa, oro. Este se aplica nuevamente por electrodeposición, tras pulir adecuadamente la estatuilla. Por último se le proporciona un acabado con laca secada al horno.

Como ya se ha dicho, en el análisis electrogravimétrico el analito se deposita electrolíticamente como sólido sobre un electrodo. A partir del incremento en la masa del electrodo se determina la cantidad de analito existente en la muestra o su concentración. Para una aplicación correcta de la técnica, se requiere el cumplimiento de una serie de requisitos:

a) El electrodo en donde se deposita el analito deberá ser pesado previamente al comienzo del análisis. La limpieza del mismo debe ser sencilla. Se denomina electrodo de trabajo.

b) El precipitado debe formarse de tal manera que se encuentre firmemente adherido al electrodo para que no se pierda durante el secado o la manipulación posterior; deberá

ser adherente, denso y liso para que se pueda lavar, secar y pesar sin pérdidas y no debe reaccionar con la atmósfera.

Las reacciones de desprendimiento de gases hacen que los precipitados metálicos sean esponjosos o directamente granulados y débilmente adheridos. En algunos casos, suele observarse partículas de precipitado que caen del electrodo aún durante el depósito. Para evitar el desprendimiento de gases se utilizan despolarizantes (ver "Para saber más" [Despolarizador] en la página 126).

c) El analito debe depositarse bajo una única forma química o, al menos, debería poder convertirse en un precipitado que contenga una única forma química. Esta condición es indispensable.

El análisis electrogravimétrico se complica cuando están presentes otras especies electroactivas que interfieran por coprecipitación con el analito, hecho, por otra parte, usual en la práctica.

Una fuente habitual de error son las pérdidas provocadas por una incorrecta adherencia del depósito sobre el electrodo, por lo que es conveniente manipular el electrodo con precaución y mantener la superficie del mismo perfectamente limpia.

5.2.4. Metodología

La metodología a seguir puede variar según el método de análisis que se siga, pero en general, comprende los siguientes pasos:

a) Limpiar y secar adecuadamente el electrodo de trabajo.
b) Pesar el electrodo de trabajo, maniobrando con pinzas.
c) Realizar el montaje del equipo, colocando adecuadamente las conexiones de los electrodos. Seguir en todo momento las instrucciones propias del aparato.
d) Situar en la celda una cantidad exactamente medida de disolución, asegurándose que una porción del electrodo de trabajo queda sin cubrir.
e) Elegir la forma de trabajo, con potencial o intensidad constante, poner en marcha el aparato, y esperar el tiempo suficiente para que la electrolisis se complete. Agitar moderadamente durante todo el proceso.
f) Comprobar que la deposición del analito ha sido cuantitativa. Para saber que un producto se ha depositado cuantitativamente existen varias pruebas:

- Desaparición del color en la disolución, factible cuando el analito disuelto presenta color, como es el caso del cobre(II), el cobalto(II), etc.
- Ausencia de un nuevo depósito en una superficie recién expuesta del electrodo. Para ello se eleva el vaso o se añade agua, y se observa si se produce depósito sobre esa nueva superficie expuesta, tras un periodo de electrolisis (de diez a quince minutos, por ejemplo). Si se ha formado, se repite el experimento. Si no se forma, es señal de que la electrolisis ha llegado a su término.
- Prueba cualitativa para el analito, sacando una pequeña muestra de la disolución.

g) Cuando se haya completado el proceso, levantar los electrodos o bajar el vaso y lavar los electrodos con agua destilada o desionizada sin desconectar el voltaje. Si se interrumpe la corriente con los electrodos en la disolución, parte del depósito se podría disolver espontáneamente, si se dan las condiciones para que se forme una celda galvánica. Cuando acabe el lavado, desconectar la fuente de alimentación.

h) Retirar los electrodos, humedecer el cátodo en alcohol o acetona (para acelerar su secado), y secar en la estufa durante unos minutos. No se debe prolongar mucho el calentamiento, pues se podría oxidar el elemento que se haya depositado. Dejar enfriar y pesar.

i) Si es necesario eliminar el depósito que se ha producido en el electrodo de trabajo, se vuelve a conectar el equipo y se aplica el mismo potencial, pero invirtiendo las polaridades desde los terminales de la fuente.

- *Mantenimiento*

Normalmente los electrodos de platino se limpian por inmersión en ácido nítrico caliente durante 2 minutos, evitando el desprendimiento de vapores. Así se elimina cualquier suciedad depositada sobre ellos. A continuación hay que enjuagarlos con suficiente agua, acabando con agua destilada o desionizada.

5.3. Coulombimetría

5.3.1. Fundamento

Las técnicas coulombimétricas de análisis están basadas en la medición exacta de la cantidad de electricidad que pasa a través de una disolución durante el transcurso de una reacción electroquímica, hasta completar la oxidación o reducción del analito. Está cantidad de electricidad se relaciona matemáticamente con la cantidad de analito presente.

La sustancia de interés puede ser oxidada (o reducida) en uno de los electrodos (análisis coulombimétrico primario), o puede reaccionar cuantitativamente en disolución con un producto de la electrolisis (análisis coulombimétrico secundario). En cualquiera de ambas situaciones, el requerimiento fundamental es que la reacción electródica sea única y se ejecute con el 100% de eficacia de la corriente.

A continuación se va a deducir la relación entre la cantidad de electricidad y la masa del analito. Para ello se hace uso de la ley de Faraday, que establece que cada vez que circule un mol de electrones por el sistema, se depositará, disolverá o generará un equivalente de la especie en cuestión.

La reacción en la que un metal X se deposita en un electrodo por procedimientos electrolíticos se puede representar mediante la ecuación:

$$X^{n+} + n\ e^- \rightarrow X(s)$$

Esto significa que por cada mol de X depositado circularán *n* moles de electrones. Con la carga de un electrón (e), y el número de Avogadro (N_A), se obtiene la carga eléctrica contenida en un mol de electrones. Lógicamente se trata de un valor constante, que se denomina Faraday (F):

$$1F = e \cdot N_A = 1{,}6022 \cdot 10^{-19}\,\frac{C}{e^-} \cdot 6{,}022 \cdot 10^{23}\,\frac{e^-}{mol} = 96487\,\frac{C}{mol} \approx 96500\,\frac{C}{mol}$$

Para depositar un mol de X, por tanto, se necesitan *n* Faraday. Para los cálculos suele utilizarse el valor redondeado de 96500 C/mol para la constante de Faraday.

Cuando circula una intensidad de corriente *I* (en amperios) durante un tiempo *t* (en segundos), la cantidad de electricidad *Q* (en culombios) es:

$$Q = I \cdot t$$

y depositará una masa *m* del metal de masa molar *M*. En consecuencia:

$$m\ g\ de\ X \cdot \frac{mol\ de\ X}{M\ g\ de\ X} \cdot \frac{n\ moles\ de\ e^-}{mol\ de\ X} \cdot \frac{F}{mol\ de\ e^-} = I \cdot t$$

Despejando la masa:

$$m = \frac{M \cdot I \cdot t}{n \cdot F}$$

Por tanto, conociendo la corriente y el tiempo que dura la electrolisis, se puede determinar directamente la masa de analito que se deposita en un electrodo, sin necesidad de hacer pesadas. Esta es la principal ventaja de esta técnica frente a la electrogravimetría: se pueden analizar cantidades de analito muy pequeñas, y por tanto masas muy pequeñas que sería imposible determinar por variación de masa del electrodo.

Las desventajas principales tienen que ver con la necesidad de conocer perfectamente la reacción que se está llevando a cabo, no solo porque es necesario saber el número de electrones intercambiados, sino porque hay que asegurarse de que no existen otras reacciones que compitan con la de interés.

EJEMPLO 2

Se va a depositar cobre en el cátodo y a desprender oxígeno en el ánodo de una celda electrolítica a partir de una disolución acuosa de Cu^{2+}. Para ello se usa una corriente constante de 0,700 A. Calcular la cantidad en gramos de cada producto formado en 19,6 min, suponiendo que no hay ninguna otra reacción redox. Datos: M_{Cu} = 63,5 g/mol; M_{O_2} = 32,0 g/mol.

Primeramente hay que escribir las dos semirreacciones que tienen lugar, para así conocer los electrones intercambiados por cada especie:

- Cátodo: $Cu^{2+} + 2e^- \rightarrow Cu(s)$
- Ánodo: $2H_2O \rightarrow O_2(g) + 4H^+ + 4e^-$

Haciendo uso de la fórmula deducida anteriormente:

$$m_{Cu} = \frac{M \cdot I \cdot t}{n \cdot F} = \frac{63{,}5\,\frac{g}{mol} \cdot 0{,}700 A \cdot 19{,}6\ min \cdot 60 s / min}{2 \cdot 96500\ C / mol} = 0{,}270\ g$$

$$m_{O_2} = \frac{M \cdot I \cdot t}{n \cdot F} = \frac{32{,}0\,\frac{g}{mol} \cdot 0{,}700 A \cdot 19{,}6\ min \cdot 60 s / min}{4 \cdot 96500\ C / mol} = 0{,}0682\ g$$

5.3.2. Instrumentación

La coulombimetría puede llevarse a cabo de dos formas, que condicionan la instrumentación que se vaya a utilizar:

A) Coulombimetría con potencial constante (potenciostática)

En esta modalidad el potencial del electrodo de trabajo se mantiene a un valor constante que asegure que solo la especie de interés es la que reaccionará electroquímicamente. La corriente es inicialmente elevada, pero disminuye con rapidez y se aproxima a cero a medida que el analito se va consumiendo, indicando el final de la reacción. La cantidad de carga se obtendrá a partir de la integral de la curva corriente-tiempo (figura 5.4).

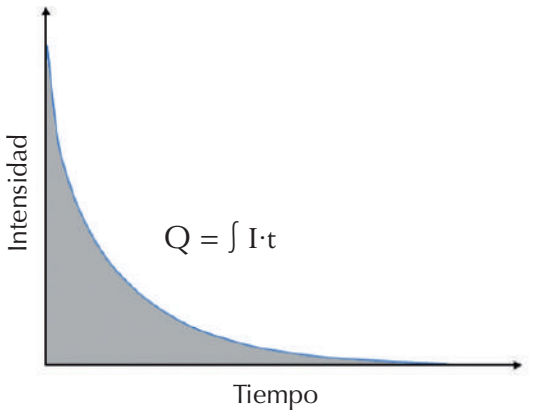


Figura 5.4
Representación de la variación de la intensidad con el tiempo en la coulombimetría potenciostática

La instrumentación para la coulombimetría a potencial controlado es similar a la descrita para la electrogravimetría potenciostática (cubeta o celda de electrolisis y potenciostato), con el añadido de un cronómetro y de un integrador electrónico, para determinar la carga consumida.

Existen varios tipos de celdas que se usan en la coulombimetría potenciostática. Constan de un electrodo de trabajo, un electrodo auxiliar (también denominado contraelectrodo), que suele estar separado de la disolución que se va a analizar por un puente salino para evitar que productos de reacción difundan e interfieran en el análisis, y, por último, un electrodo de referencia.

El electrodo de trabajo frecuentemente es una rejilla de platino, pero también puede ser de mercurio o de carbono. El electrodo de mercurio resulta muy útil para separar elementos fácilmente reducibles como etapa preliminar en un análisis, aunque también se usa directamente para la determinación de iones metálicos y ciertos tipos de compuestos orgánicos.

B) Coulombimetría con corriente constante (amperostática)

En este caso se aplica una corriente constante durante un determinado tiempo. Al conocerse los dos parámetros se puede calcular fácilmente el valor de la carga (figura 5.5). En este caso es necesario un sistema indicador que determine que la reacción ha llegado a su punto final. Por eso recibe también el nombre de valoración coulombimétrica.

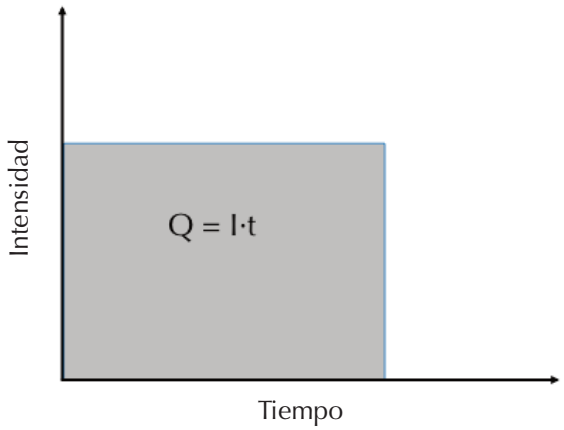


Figura 5.5
Representación de la variación de la intensidad con el tiempo en la coulombimetría potenciostática

EJEMPLO 3

En una muestra de masa 0,7202 g se determinó Fe(III) por coulombimetría a potencial controlado, reduciéndose a Fe(II) en un cátodo de platino. Calcular el porcentaje de $Fe_2(SO_4)_3$ (Masa molecular: 399,88 g/mol) en la muestra si se requieren 101,2554 C para la reducción.

En primer lugar hay que tener en cuenta que 1 mol de $Fe_2(SO_4)_3$ consume dos moles de electrones, por lo que en la fórmula para el cálculo de la masa, n = 2. Los datos del problema ya aportan el número de coulombios requeridos, que corresponden al producto $I \cdot t$. Por tanto, en la ecuación solo hay que sustituir todos los datos numéricos y se obtiene la masa:

$$m = \frac{M \cdot I \cdot t}{n \cdot F}$$

$$m = \frac{\dfrac{399,88\,g}{mol Fe_2(SO_4)_3} \cdot 101,2554 C}{\dfrac{2\ mol\ e^-}{mol Fe_2(SO_4)_3} \cdot \dfrac{96487 C}{mol\ de\ e^-}} = 0,2098\,g$$

Ya solo resta calcular el porcentaje:

$$\%Fe_2(SO_4)_3 = 0,2098 \cdot \frac{100}{0,7202} = 29,13\%$$

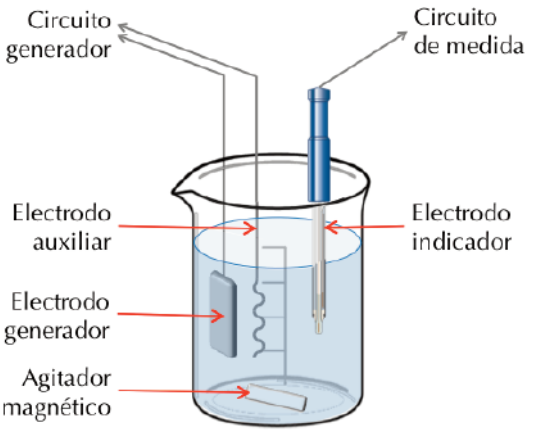


Figura 5.6
Esquema básico de una titulación coulombimétrica

Para llevar a cabo una coulombimetría a corriente constante o titulación coulombimétrica se necesita un aparato que suministre una corriente totalmente constante, un cronómetro eléctrico para medir el tiempo total durante el que pasa la corriente, y un sistema adecuado para localizar el punto final. El punto final se puede determinar, en principio, por cualquiera de los métodos utilizables en volumetría. Los más usados son los indicadores coloreados, la potenciometría y la amperometría.

La celda consiste en un par de electrodos, generalmente inertes. Uno de ellos (el de mayor área) se denomina en este caso electrodo generador y es donde se genera el reactivo, y el otro es el electrodo auxiliar (figura 5.6). Igual que en la otra modalidad, el electrodo auxiliar suele estar en un compartimento separado.

Existen en el mercado diversos tituladores coulombimétricos automatizados. Casi todos se apoyan en un punto final potenciométrico. Algunos se utilizan para determinar una gran variedad de especies, mientras que otros están diseñados para un solo análisis. Un ejemplo de estos últimos son los tituladores del contenido de agua, basados en la reacción de Karl Fischer. Otro ejemplo son los tituladores de cloruros, en los que el ion plata se genera coulombimétricamente.

5.3.3. Características analíticas y aplicaciones

La coulombimetría presenta numerosas ventajas sobre otros procedimientos cuantitativos. Sus resultados son precisos y poseen una exactitud del orden de $\pm 0{,}2\%$. Las valoraciones coulombimétricas son mucho más sensibles que las clásicas.

La coulombimetría con potencial controlado posee todas las ventajas de los métodos electrogravimétricos sin que sea necesario pesar el producto. Por tanto, como ya se ha dicho, se pueden analizar cantidades de analito muy pequeñas (muy útil en el análisis de trazas). Pero además

EJEMPLO 4

Se determina la concentración de ion permanganato mediante una valoración coulombimétrica, por generación de Fe^{2+} a partir de Fe^{3+}. El permanganato al reaccionar con el Fe^{2+} generado se redujo a Mn^{2+} con una corriente constante de 2,50 mA actuando durante 10,37 minutos. Calcular la molaridad del permanganato considerando que el volumen inicial fue de 25,0 mL.

La cantidad de electricidad se emplea en generar Fe^{2+}, por lo que aplicando la ecuación se puede determinar el número de moles de Fe^{2+} generados:

$$m = \frac{M \cdot I \cdot t}{n \cdot F}$$

$$\frac{m}{M} = \frac{I \cdot t}{n \cdot F}$$

Según la reacción que tiene lugar en el electrodo: $Fe^{3+} + e^- \rightarrow Fe^{2+}$, *n* es 1, por tanto, sustituyendo las magnitudes:

$$n.^{o}\, moles\ Fe^{2+} = \frac{2{,}50 \cdot 10^{-3}\, A \cdot 10{,}37 min \cdot \frac{60 s}{min}}{\frac{1 mol\ e^-}{mol\ Fe^{2+}} \cdot 96487\ C} = 1{,}612 \cdot 10^{-5}\, moles\ Fe^{2+}$$

Para calcular los moles de MnO_4^- que reaccionan con los moles generados de Fe^{2+}, hay que tener en cuenta la reacción redox que tiene lugar:

- Reducción: $MnO_4^- + 8H^+ + 5e^- \rightarrow Mn^{2+} + 4H_2O$
- Oxidación: $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + e^-$
- Reacción redox global: $MnO_4^- + 8H^+ + 5Fe^{2+} \leftrightarrows Mn^{2+} + 5Fe^{3+} + 4H_2O$

Según la estequiometría de la reacción, 5 moles de Fe^{2+} reaccionan con 1 de MnO_4^-, por lo que:

$$Moles\ de\ MnO_4^- = moles\ de\ Fe^{2+} \cdot \frac{1\ mol\ de\ MnO_4^-}{5\ moles\ de\ Fe^{2+}}$$

$$Moles\ de\ MnO_4^- = 1{,}612 \cdot 10^{-5}\, moles\ de\ Fe^{2+} \cdot \frac{1\ mol\ de\ MnO_4^-}{5\ moles\ de\ Fe^{2+}} = 3{,}224 \cdot 10^{-6}\, moles\ de\ MnO_4^-$$

Para calcular la molaridad solo queda dividir el número de moles calculado entre el volumen analizado de la disolución, 25,0 mL, pasado a litros:

$$N = \frac{3{,}224 \cdot 10^{-6}\, moles}{25{,}0 \cdot 10^{-3}\, L} = 1{,}29 \cdot 10^{-4}\, mol / L$$

y por el mismo motivo, se puede aplicar a sistemas que produzcan depósitos con propiedades físicas deficientes así como a reacciones que no generen productos sólidos. Por tanto, el abanico de aplicaciones se amplía.

La técnica se ha aplicado para determinar más de cincuenta elementos en compuestos inorgánicos. También ofrece posibilidades para determinaciones de compuestos orgánicos (y para su síntesis). Por último, señalar que es una alternativa frecuente como sistema de detección en la cromatografía de líquidos.

Pero las aplicaciones más numerosas de los métodos coulombimétricos se encuentran en el grupo de las valoraciones coulombimétricas a corriente constante. Estas valoraciones no se diferencian de las volumetrías clásicas más que en la manera de adicionar el agente valorante: en vez de utilizar una bureta, se genera electrolíticamente. De este modo se evita la alteración de las disoluciones de conservación difíciles, se permite el uso de reactivos complicados de manejar, se pueden añadir microcantidades con mucha exactitud, y se presta más a la automatización, porque resulta más fácil el control de una corriente eléctrica que el líquido liberado por una bureta.

A pesar de todo, las valoraciones coulombimétricas están sujetas a cinco fuentes de error:

a) Variación de la intensidad durante la electrolisis.

b) Incumplimiento del rendimiento al 100% de la corriente en el proceso.

c) Error en la medida de la intensidad.

d) Error en la medida del tiempo.

e) Error en la valoración, debido a la diferencia entre el punto final y el punto de equivalencia. Este error es común a las valoraciones clásicas.

En general, la magnitud de estos errores es muy pequeña, siendo las valoraciones coulombimétricas tanto o más exactas que las valoraciones clásicas, en particular cuando se usan pequeñas cantidades de reactivo. A menudo la exactitud está limitada por la sensibilidad de la detección del punto final; en este caso los dos procedimientos son equivalentes.

Las valoraciones coulombimétricas se han usado en todo tipo de reacciones volumétricas:

- *Valoraciones de neutralización:* en este caso se generan los iones H^+ o iones OH^- a partir de la electrolisis del agua.
- *Valoraciones de precipitación*: se llevan a cabo valoraciones de precipitación con reactivos generados electrolíticamente. Por ejemplo, se genera Ag^+ a partir de la oxidación de un ánodo de plata, y se emplea para la cuantificación de halogenuros.
- *Valoraciones de complejos*: las valoraciones coulombimétricas se aplican por ejemplo a las valoraciones de cationes con etilendiaminotetracetato, que se generan electrolíticamente, a partir de un exceso de complejo Hg^{2+}-EDTA. La reducción del Hg^{2+} libera el anión EDTA, algo que no ocurre espontáneamente porque el quelato de mercurio es más estable que el que se produciría con otros cationes, como calcio, cinc o cobre. Por tanto solo hay libre el anión EDTA que libera el proceso electródico.
- *Valoraciones de oxidación-reducción*: se pueden generar coulombimétricamente varios oxidantes y reductores, que luego pueden aplicarse a diversos análisis. Por ejemplo, el bromo electrogenerado resulta especialmente útil, y se han ideado muchos métodos de análisis basados en esta sustancia.

PARA SABER MÁS

Valorador de Karl-Fischer

Una aplicación de la coulombimetría es la determinación de agua por el método de Karl-Fischer. Se usa para determinar el contenido de agua en productos tales como el petróleo crudo y sus derivados, aceite lubricantes y sus aditivos, así como en hidrocarburos líquidos en general.

En la reacción de Karl Fischer, que da base química al método y explica su especificidad, participan diversas sustancias químicas, entre ellas el yodo, sustancia que reacciona de manera directa con el agua presente en la muestra que se va a analizar en proporción uno a uno.

$$SO_2 + I_2 + H_2O \rightarrow 2HI + SO_3$$

El yodo necesario para que reaccione con el agua presente puede adicionarse mediante un reactivo que lo contenga, como se realiza en las valoraciones clásicas. Esto está indicado cuando el contenido de agua es superior a 0,01%. Pero cuando el contenido de agua es inferior, es necesario recurrir al método coulombimétrico, en donde el yodo reactivo no se dosifica sino que se forma por acción del paso de la corriente entre dos electrodos.

Cuando ya no hay agua, si se genera una mínima cantidad de yodo en exceso, no se consumirá reaccionando con el agua. El yodo presente provoca una caída del potencial, detectándose así el final de la valoración.

Midiendo la cantidad de electricidad empleada desde el inicio de la valoración hasta que no se detectó más agua, se conocerá la masa de la misma que había presente.

5.4. Voltamperometría

5.4.1. Fundamento

Las voltamperometrías o voltametrías comprenden un grupo de procedimientos de electroanálisis que se basan en la relación intensidad-potencial sobre un electrodo. Midiendo las intensidades de corriente generadas en función de la diferencia de potencial aplicada se obtiene información sobre un determinado analito. Las condiciones del análisis deben ser tales que favorezcan la polarización por concentración del electrodo de trabajo, de forma que la velocidad de oxidación o reducción del analito está limitada por la velocidad de transferencia de masa del analito a la superficie del electrodo. Esto se consigue disminuyendo el tamaño del electrodo indicador, por lo que muchas veces se utilizan microelectrodos, con áreas del orden de milímetros cuadrados, o incluso micrómetros cuadrados.

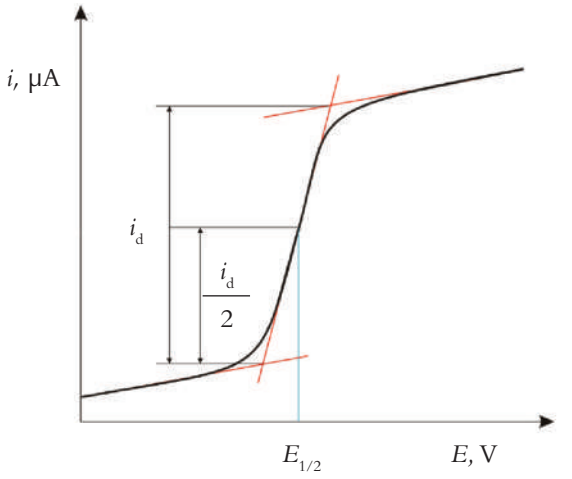


Figura 5.7
Voltamperograma de barrido lineal
(cortesía de E. Generali. http://glossary.periodni.com/)

En la voltametría no se persigue la precipitación cuantitativa de ningún ion, es más, la composición de la disolución apenas se altera durante la electrolisis. Tampoco se utiliza un potencial constante, sino que se aplica un potencial variable, que provoca una respuesta de intensidad de corriente característica, que se va midiendo. Así se obtienen las curvas corriente/potencial. Estas curvas reciben el nombre de voltagramas o voltamperogramas, y a partir de ellas se puede obtener información cualitativa y cuantitativa de la muestra analizada.

Se pueden aplicar al electrodo varias funciones distintas de voltaje-tiempo dando lugar a las diferentes técnicas de voltamperometría. La más sencilla es un barrido lineal, en la que el potencial del electrodo de trabajo se varía linealmente con el tiempo.

El barrido lineal da lugar a un voltamperograma que adquiere generalmente una forma sigmoidea. Se caracteriza por una corriente que aumenta a partir de una corriente residual basal hasta alcanzar una corriente límite, que aparece al potencial al que el analito se oxida o se reduce (figura 5.7).

La *corriente límite* (i_d) es proporcional a la concentración del analito (C_A), y se usa para el análisis cuantitativo:

$$i_d = k \cdot C_A$$

El punto de inflexión de la curva es la corriente límite divida entre dos. El potencial correspondiente a ese punto se denomina *potencial de semionda* ($E_{1/2}$), y está relacionado con el potencial de reducción del analito en estudio, lo que sirve de base a las posibilidades identificativas de esta técnica. Se puede incluso determinar varias especies mezcladas, si sus potenciales de reducción son suficientemente diferentes (en general, se requieren unas cuantas décimas de voltio de diferencia para resolver especies distintas). En ese caso, el voltamperograma muestra varias ondas voltamperométricas, una por cada especie.

PARA SABER MÁS

Cuando se hace pasar corriente eléctrica por un circuito, la intensidad es proporcional al potencial de la fuente externa. Para determinados valores del potencial, el cambio de la intensidad con el potencial es lineal según predice la ley de Ohm *(V = I · R)*, pero a partir de ciertos valores del potencial la recta se curva hasta perder toda su pendiente. Se dice que se ha alcanzado la *corriente límite*. A partir de ese momento, aunque se aumente el potencial la corriente no aumentará. Esto es debido a distintos fenómenos que ocurren en el sistema y que se engloban bajo el nombre de polarización. Por ejemplo, los iones y electrones que se mueven hacia o desde los electrodos lo hacen con una velocidad que no puede superar ciertos límites porque se producen impedimentos y choques; además, las especies emplean cierto tiempo en adsorberse o desorberse de los electrodos, en cristalizar, etc.

5.4.2. Instrumentación

La celda consta de tres electrodos sumergidos en la disolución que contiene el analito. Esta disolución también lleva un exceso de electrolito no reactivo, denominado electrolito soporte.

Uno de los tres electrodos es el electrodo de trabajo o microelectrodo, cuyo potencial se hace variar con el tiempo. El segundo electrodo es el de referencia, cuyo potencial permanece constante, habitualmente es un electrodo de calomelanos o de Ag/AgCl. El tercero es un electrodo auxiliar o contraelectrodo, que suele ser una espiral de alambre de platino, que simplemente conduce la electricidad desde la fuente de la señal hasta el electrodo de trabajo, a través de la disolución (figura 5.8). La fuente de la señal es un generador de voltaje de barrido lineal.

- *Electrodo de trabajo*

Para fabricar el electrodo de trabajo se usan diferentes materiales tales como mercurio, platino, oro, plata y carbono.

En las primeras técnicas voltamperométricas que se desarrollaron se utilizaba mercurio (polarografía). El *electrodo de gota de mercurio* está formado por gotas de mercurio que fluyen continuamente a través de un capilar muy fino. La gota va aumentando de tamaño (el diámetro oscila entre 0,5 y 1 mm) de forma continua hasta que cae, momento en que se sustituye por otra nueva. El tiempo que transcurre entre la formación de una gota hasta que se desprende del capilar es de varios segundos.

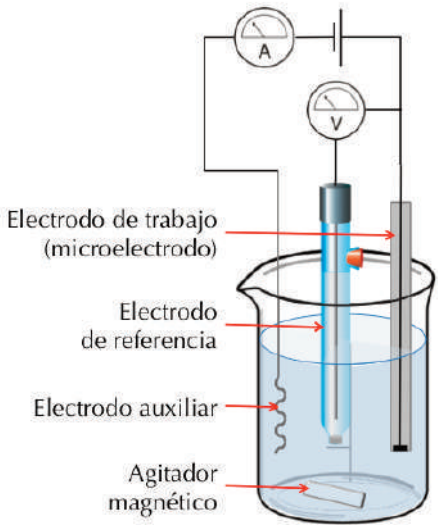


Figura 5.8
Esquema de la celda electroquímica para voltamperometría

Variedades de este mismo electrodo son el *electrodo de mercurio de gota suspendida*, donde la gota de mercurio queda suspendida en el extremo del capilar, y el *electrodo de película de mercurio*, que consiste en una fina capa de mercurio depositada sobre la superficie de un electrodo sólido de carbono, platino u oro. El electrodo sólido se coloca en una disolución de Hg^{2+}, y se mantiene un potencial favorable para la reducción de Hg^{2+} a Hg, con lo que se forma la película.

El mercurio tiene varias ventajas como electrodo de trabajo:

- Posee un elevado sobrepotencial para la reducción de H_3O^+, por lo que se puede aplicar un rango más amplio de potenciales.
- Se renueva en cada gota, luego no hay que limpiarlo.
- Capacidad de otros metales de disolverse en el mercurio, formando amalgamas.

Como inconvenientes, hay que decir que:

- El mercurio es perjudicial para el medio ambiente y está regulado en muchos países.
- Para tener buenos resultados las gotas deben ser reproducibles. Y esto no se consigue si hay impurezas que obstruyan el capilar, o si se producen perturbaciones mecánicas que alteren el tamaño de la gota.

Por otra parte, los electrodos de trabajo sólidos (de platino, oro, etc.) pueden emplearse con una amplia gama de potenciales, tanto negativos como positivos en relación con el electrodo de referencia. Estos electrodos tienen una gran variedad de configuraciones y formas. Frecuentemente son pequeños discos planos de un conductor que se montan en una varilla de material inerte, que tiene incorporado un alambre de contacto (figura 5.10). El conductor puede ser un metal noble (como platino u oro), grafito pirolítico, carbón vítreo, un semiconductor como estaño, etc. Los electrodos de película de bismuto están dando en la actualidad buenos resultados.

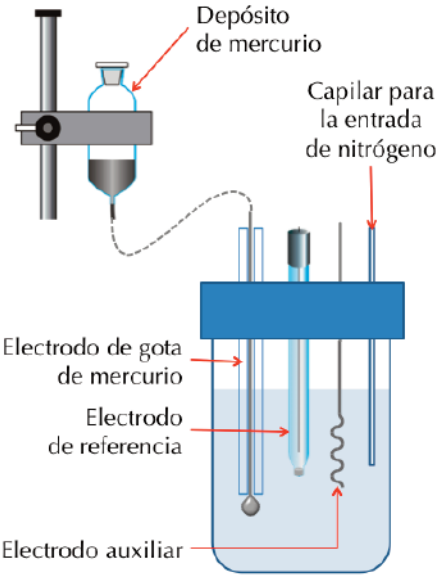


Figura 5.9
Celda para voltamperometría con electrodo de gota de mercurio

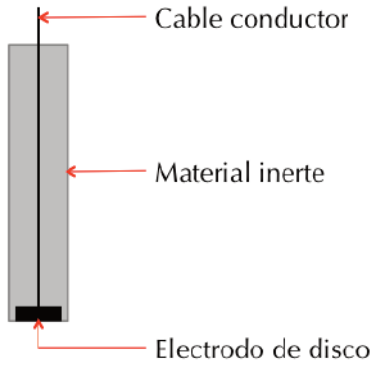


Figura 5.10
Diagrama esquemático de un electrodo sólido

Los electrodos sólidos no están exentos de problemas, de los que el más importante es la facilidad con que se degrada su superficie a causa de la adsorción de las especies en disolución o de la formación de capas de óxido. Esto hace que necesiten frecuentes reacondicionamientos, bien aplicando un potencial adecuado o bien puliéndolos.

5.4.3. Características analíticas y aplicaciones

La mayoría de los análisis voltamperométricos se realizan en disolución acuosa, pero si es necesario se pueden usar otros disolventes. El margen de concentraciones para análisis cuantitativo está entre 10^{-2} y 10^{-4} M, pero pueden conseguirse determinaciones del orden de 10^{-9} M. Además requiere muy poca cantidad de muestra (puede realizarse el análisis con 1-2 mL de disolución). Con analitos en concentraciones no demasiado bajas se obtienen exactitudes de ±1-3%.

Con el desarrollo de las técnicas espectroscópicas, el análisis voltamperométrico fue quedando en desuso, salvo para algunas aplicaciones. En los últimos tiempos, se ha observado un renovado interés por estas técnicas, debido a algunas modificaciones que han permitido aumentar la sensibilidad y especificidad del método. Así se usan para:

- Análisis de compuestos inorgánicos y orgánicos en agua y alimentos.
- Detección y determinación de especies o iones oxidables o reducibles a la salida de columnas cromatográficas o aparatos de flujo continuo (detectores voltamétricos).
- Determinaciones de rutina de oxígeno.
- Determinaciones de rutina de especies de interés bioquímico, como glucosa, lactosa o sacarosa.
- Detección del punto final en valoraciones volumétricas: valoraciones amperométricas.
- Análisis cualitativo y cuantitativo de varios compuestos químicos de modo simultáneo.
- Análisis de trazas de metales.
- La voltametría se usa también con fines no analíticos, como estudios de los procesos de oxidación y reducción en diferentes medios, procesos de adsorción sobre superficies, etc.

5.4.4. Tipos de voltamperometrías

La técnica tiene interesantes variedades, según cómo se modifique el potencial con el tiempo. Como se ha dicho, en la voltamperometría de barrido lineal el potencial se aumenta linealmente con el tiempo. En la voltamperometría cíclica, el potencial se aumenta linealmente para después disminuir, y así en varios ciclos.

La polarografía es una voltametría donde el electrodo de trabajo es una gota de mercurio, que se va formando y cayendo continuamente. Esto provoca que las curvas corriente/potencial, denominadas en este caso polarogramas, tengan una peculiar forma de diente de sierra. El ánodo puede estar constituido por el mismo mercurio que se deposita en el fondo del recipiente o por un electrodo de calomelanos en contacto con este mercurio.

Un refinamiento de esta técnica es la voltamperometría (o polarografía) de pulsos, así llamada porque el potencial se aplica según pulsos (subidas bruscas) programados. Dentro de ellas cabe destacar las subvariedades de voltamperometría diferencial de pulsos y voltamperometría de onda cuadrada. Los voltamperogramas que se obtienen están formados por picos (no por ondas voltamperométricas), por lo que son muy fáciles de interpretar y de ellos se obtiene de forma relativamente sencilla información cualitativa y cuantativa incluso de mezclas, con límites de detección muy bajos.

También produce excelentes resultados otra modalidad llamada voltamperometría de redisolución, consistente en iniciar una electrolisis para que se deposite una especie en el electrodo y después bajar el potencial para dejar que el proceso electroquímico se invierta y el depósito se redisuelva. Lo que se consigue así es una preconcentración del analito, y de este modo los límites de detección bajan extraordinariamente (hasta 10^{-12} M). Los voltamperogramas están formados por picos, uno por cada especie existente en la muestra.

Al igual que otras técnicas electroanalíticas, como la potenciometría y la conductimetría, la voltamperometría se puede también adaptar a la detección del punto final en volumetrías, dando lugar así a las valoraciones amperométricas.

PARA SABER MÁS

Sensores voltamperométricos

Existen sensores basados en las técnicas voltamperométricas. Dos muy empleados son el de glucosa y el de oxígeno.

El *sensor de glucosa* se emplea para la determinación de esta molécula en muestras de sangre. Consta de una membrana de tres capas: una película de policarbonato permeable a la glucosa, una película intermedia con la enzima glucosa oxidasa inmovilizada, y una membrana de acetato de celulosa que es permeable a moléculas pequeñas como el peróxido de hidrógeno.

La enzima cataliza la oxidación de la glucosa. Un producto de esta reacción es el peróxido de hidrógeno, que difunde a través de la membrana interna hacia la superficie del electrodo, donde se oxida a oxígeno. La intensidad de corriente resultante es directamente proporcional a la cantidad de peróxido de hidrógeno y, por tanto, a la concentración de glucosa en la muestra.

Resumen

La electrogravimetría es una técnica analítica en la que se determina la cantidad de un analito, induciendo su electrolisis mediante una fuente de potencial externa, consiguiendo su deposición cuantitativa en un electrodo. El incremento de masa del mismo después del proceso se utilizará para calcular la cantidad de analito que estaba presente. Hay dos modalidades de electrogravimetría: sin control de potencial y a potencial controlado. Esta última posee más aplicaciones, pero el equipo que requiere es más sofisticado.

La coulombimetría está basada en la medición exacta de la cantidad de electricidad que pasa a través de una disolución durante la oxidación o reducción completa del analito. La cantidad de electricidad se relaciona matemáticamente con la cantidad de analito presente. Posee más aplicaciones que la electrogravimetría, pudiéndose aplicar a sistemas que produzcan depósitos con propiedades físicas deficientes, así como a reacciones que no generen productos sólidos. Además posee una sensibilidad mayor. Puede realizarse a intensidad o a potencial constante.

La voltamperometría comprende un grupo de procedimientos de electroanálisis que se basan en la medición de las intensidades generadas en función de la diferencia de potencial aplicada sobre el electrodo de trabajo. Así se obtienen las curvas corriente/potencial o voltamperogramas, y a partir de ellas se puede obtener información cualitativa y cuantitativa de la muestra analizada.

Práctica n.° 7

Determinación de cobre por electrogravimetría

Objetivo	Determinar el contenido de cobre en una muestra por electrogravimetría.
Procedimiento	1. Lavar los electrodos con HNO_3 1:1, enjuagarlos suficientemente con agua destilada o desionizada y luego con acetona para desengrasarlos y acelerar su secado. 2. Secar en estufa unos minutos, enfriar y pesar en balanza analítica. 3. Colocar los electrodos en el equipo adecuadamente. 4. Disponer un vaso de precipitado con un volumen exacto de la disolución de la muestra, preparada convenientemente. Agregar 10 mL de H_2SO_4 1:1 y 2 mL de HNO_3 1:1. Agregar agua destilada o desionizada o modificar la altura del vaso hasta cubrir tres cuartas partes del cátodo. Agregar un poco de urea. 5. Poner el equipo en marcha aplicando un voltaje suficiente como para que circule una corriente de 2 amperios. Cuando se constate que ya se ha depositado todo el cobre, retirar el vaso de precipitado y sin desconectar la corriente enjuagar los electrodos con agua destilada o desionizada y luego con alcohol o acetona. Cortar la corriente, retirar el cátodo y secar en estufa unos minutos. Dejar enfriar, pesar y calcular el contenido de cobre en la muestra.

[.../...]

Notas	1. Tras el lavado de electrodos, manipular con pinzas para evitar que se ensucien con la grasa de las manos. 2. Los ácidos se adicionan para aportar un pH adecuado y para aumentar la fuerza iónica de la disolución. 3. La urea actúa como despolarizante, evitando el desprendimiento de gases, que produciría un precipitado esponjoso. 4. Para saber si ya se ha depositado todo el cobre, esperar a que la la disolución se haya decolorado. Agregar entonces un poco más de agua y continuar la electrolisis 10 minutos más. Si se observa que se ha depositado cobre en la superficie recién expuesta, volver a adicionar agua y continuar unos minutos más. Cuando ya no se observe más deposición de cobre, se considera que no queda cobre en disolución.

Práctica n.º 8

Uso de simulador *on line* de electrolisis

Objetivo	Familiarizarse con los métodos instrumentales que conllevan electrolisis, electrogravimetría y coulombimetría. La simulación propuesta persigue recubrir con plata un trozo de hierro, contestando a unas preguntas al respecto.
Procedimiento	1. Visitar la página: http://group.chem.iastate.edu/Greenbowe/sections/projectfolder/flashfiles/electroChem/electrolysis10.html 2. Para comenzar la simulación debe elegirse los electrodos: elegir plata (*silver*) como ánodo (electrodo de la izquierda) y hierro (*iron*) como cátodo (electrodo de la derecha). La disolución debe ser de iones plata. 3. La intensidad de trabajo será de 2 amperios y el tiempo de 5 minutos. 4. Calcular cuál será el potencial mínimo que se ha de seleccionar para que comience la reacción, y seleccionarlo. Para el cálculo hacer uso de los potenciales normales de reducción. 5. Poner el conmutador en *on* una vez seleccionados los parámetros del experimento. Si el potencial elegido no es el suficiente para que se produzca la simulación, aparecerá un mensaje indicándolo. 6. La cantidad de plata depositada en el hierro se conoce por el incremento de masa que se produce en este electrodo, que se indica sobre el mismo una vez acabada la simulación. Comprobar aplicando la ley de Faraday el resultado obtenido. 7. Si el tiempo de electrolisis pasase a ser de 15 minutos y la intensidad de 1 amperio, calcular la cantidad de plata que habría desaparecido del electrodo de plata, y comprobarlo realizando la experiencia en el simulador. 8. Diseñar otras simulaciones usando electrodos, intensidades y tiempos diferentes.

[.../...]

Notas	1. Las pestañas se abren y se cierran pulsando sobre ellas. 2. Los datos de potenciales normales se encuentran en la pestaña inferior derecha. 3. Para hacer una nueva experiencia debe pulsarse *"new trial"*.

Ejercicios propuestos

1. Industrialmente, el cobre se purifica por electrolisis. El cobre impuro actúa como ánodo y el cátodo está constituido por cobre puro. Los electrodos se sumergen en una disolución de $CuSO_4$. Durante la electrolisis, los iones Cu^{2+} se reducen en el cátodo y el cobre del ánodo pasa a la disolución como Cu^{2+}.

   a) Escribe las reacciones de cada semicelda y la reacción global para este proceso electrolítico.

   b) Suponiendo que el ánodo está contaminado con Zn y Ag, explica qué le pasa a las impurezas durante la electrolisis.

2. ¿En qué orden se depositarán los metales durante la electrólisis de una disolución que contiene iguales concentraciones de sulfatos de níquel y de cobre?

3. Se desea convertir I^- en I_3^- por electrolisis. Se parte de una disolución de KI 0,1 M, que contiene I_3^- $3 \cdot 10^{25}$ M, a pH 10,0, y a una presión de H_2 de 1,00 atm. La reacción que se va a producir es:

$$3I^- + 2H_2O \leftrightarrows I_3^- + H_2(g) + 2OH^-$$

   La resistencia de la celda es de 2,0 Ω y la corriente es de 63 mA. El sobrepotencial del cátodo es 0,38 V, y el del ánodo 0,02 V ¿Qué potencial se necesita aplicar a la celda para que se produzca la reacción?

4. Se lleva a cabo una electrogravimetría usando 50,0 mL de una disolución que contiene Cu^{2+}. Una vez comprobado que no queda más cobre en disolución, se lava y seca el cátodo donde se ha depositado, y se encuentra que ha tenido un incremento de masa de 0,4597 g. Indica la concentración en g/L del cobre presente en la disolución analizada.

5. Una muestra de cloruro de estaño (IV) fue reducida a cloruro de estaño (II) según la reacción:

$$Sn^{4+} + 2e^- \rightarrow Sn^{2+}$$

La corriente aplicada fue de 9,65 A y el tiempo empleado en la reducción 16 minutos 40 segundos. Determina la masa de Sn^{4+} que había inicialmente en la muestra.

6. Se disolvió una aleación de plata en HNO_3, y mediante electrolisis la plata se depositó sobre un cátodo de platino. El peso del mismo se incrementó en 0,2078 g. Si la reducción de la plata se realizó con un 100% de eficiencia de corriente, ¿cuántos culombios de electricidad participaron en el proceso?

7. Se oxida cuantitativamente una muestra de fenol (C_6H_6O) con Br_2 generado anódicamente a partir de Br_2 según la siguiente reacción:

$$C_6H_6O + 3Br_2 \rightarrow C_6H_3Br_3O + 3HBr$$

Se emplea una corriente constante de 4 mA durante 2,329 minutos para alcanzar el punto final de la valoración, ¿cuántos gramos de fenol contenía la muestra?

8. Busca información sobre el sensor de oxígeno de Clark.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. La electrogravimetría conlleva:
   - ☐ *a)* La utilización de la balanza.
   - ☐ *b)* La utilización de gráficos.
   - ☐ *c)* La preparación de patrones.

2. La coulombimetría relaciona:
   - ☐ *a)* La masa de los electrodos con la cantidad de analito presente.
   - ☐ *b)* La diferencia de potencial aplicada para realizar la electrolisis con la cantidad de analito presente.
   - ☐ *c)* La cantidad de electricidad empleada en la electrolisis con la cantidad de analito presente.

3. La voltametría:
   - ☐ *a)* Se usa tanto para análisis cualitativo como cuantitativo.
   - ☐ *b)* Se usa solo para análisis cualitativo.
   - ☐ *c)* Se usa solo para análisis cuantitativo.

4. En la voltametría:
   - ☐ *a)* La corriente límite es proporcional al logaritmo de la concentración del analito.
   - ☐ *b)* La corriente límite es proporcional a la concentración del analito.
   - ☐ *c)* La corriente límite es independiente de la concentración del analito.

5. Señala la frase errónea sobre electrogravimetría:
   - ☐ *a)* Se acelera el secado del electrodo donde se ha depositado el analito con alcohol o acetona.
   - ☐ *b)* No se debe desconectar la fuente de alimentación hasta que no se han extraído los electrodos de la disolución donde estaban sumergidos.
   - ☐ *c)* El tiempo del análisis debe ser medido con total exactitud.

6. Señala la frase errónea sobre coulombimetría:
   - ☐ *a)* Debe conocerse perfectamente la reacción que se está llevando a cabo.
   - ☐ *b)* El tiempo es una de las variables que se debe controlar.
   - ☐ *c)* Deben prepararse patrones que contengan el analito en estudio en concentraciones adecuadas.

SOLUCIONES:

1. a b c	**3. a** b c	5. a b **c**
2. a b **c**	4. a **b** c	6. a b **c**

Parte III

Técnicas ópticas espectroscópicas y no espectroscópicas

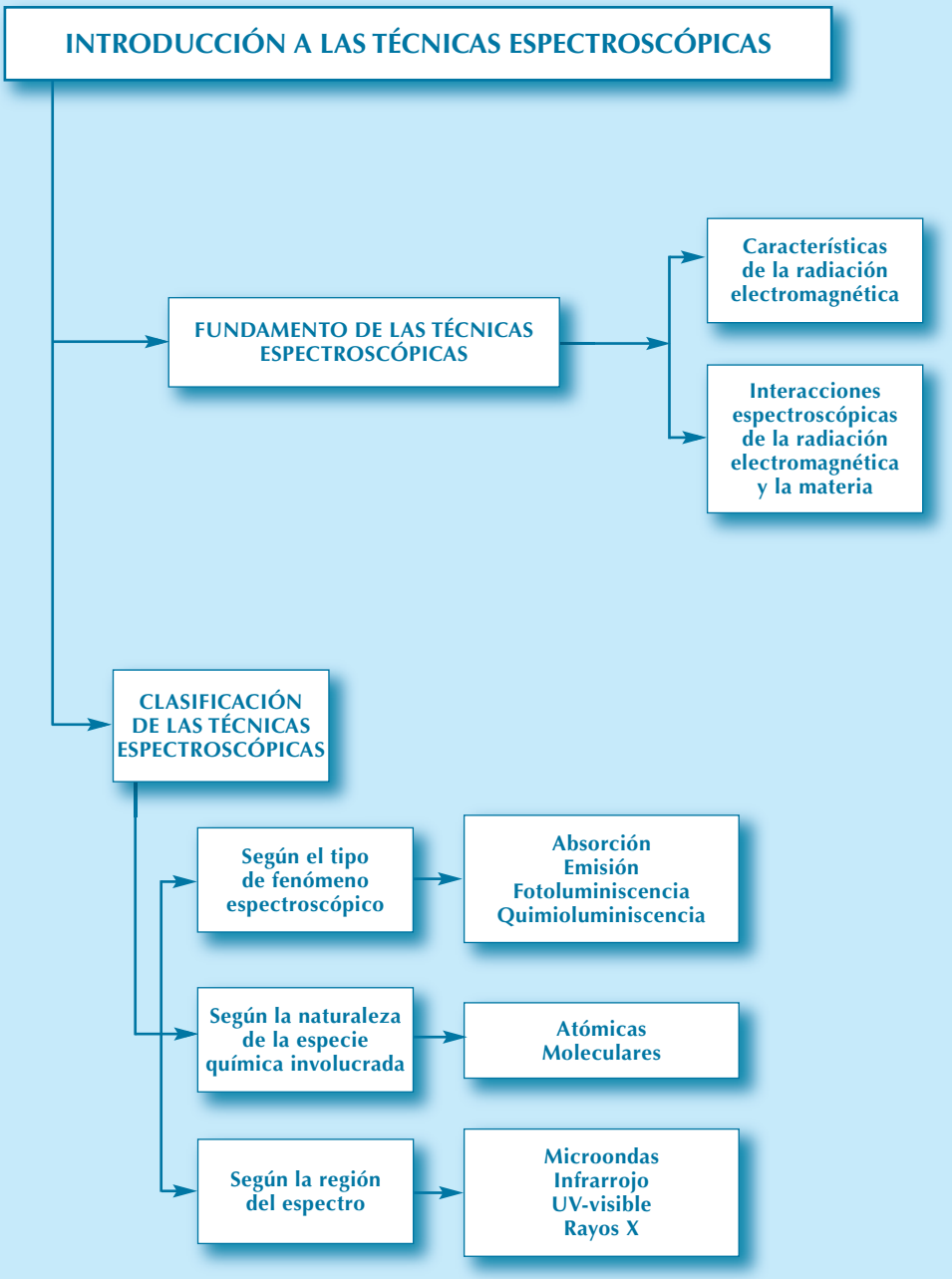
6

Introducción a las técnicas espectroscópicas

Objetivos

1. Comprender el fundamento básico de las técnicas espectroscópicas.
2. Conocer las características básicas de la radiación electromagnética y de los fenómenos de interacción espectroscópica entre la radiación y la materia.
3. Aportar una visión general del conjunto de técnicas espectroscópicas.

Mapa conceptual del capítulo



Glosario

Espectro. Gráfico que representa la radiación absorbida o emitida en función de la frecuencia o longitud de onda.

Onda transversal. Onda en la que la dirección de oscilación es perpendicular a la dirección de propagación.

6.1. Fundamento

Las técnicas espectroscópicas se basan en los fenómenos de absorción y emisión de energía que tienen lugar en la interacción entre la radiación electromagnética y la materia.

Se trata de un conjunto de técnicas que abarcan conjuntamente un amplio campo de aplicación, son fácilmente automatizables y ofrecen una relativamente alta rapidez de operación.

Para saber más

Un poco de historia: los orígenes de la espectroscopía

Los fundamentos de la espectroscopía hunden sus raíces en el siglo XVII, cuando Isaac Newton observó cómo la luz blanca del Sol era descompuesta al atravesar un prisma dando lugar a los colores del espectro visible. Newton postuló asimismo que los cuerpos opacos, al ser iluminados, reflejan toda o parte de la luz incidente, dando lugar así al color con el que se perciben.

A principios del siglo XIX el óptico alemán Joseph Fraunhofer estudió el espectro solar identificando unas 600 líneas oscuras, comprobando que eran inherentes a la fuente de luz, el Sol. Estudió asimismo el espectro de otras estrellas descubriendo que la distribución de líneas oscuras no era la misma en todos los casos. También descubrió que el espectro de la luz proveniente de la Luna y otros planetas del sistema solar tenían el mismo patrón que la luz del Sol, demostrando así que se trata de luz solar reflejada en estos cuerpos celestes.

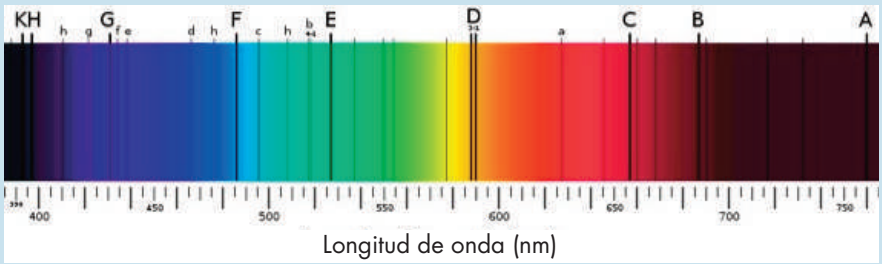


Figura 6.1
Espectro solar con algunas de las líneas más intensas de las identificadas por Fraunhofer

Casi medio siglo después los científicos alemanes Gustav Kirchoff y Robert Bunsen, gracias al empleo de espectroscopio, ideado por ellos mismos y en el que jugaba un papel fundamental el mechero inventado por Bunsen, explicaron el origen de las líneas de Fraunhofer: estas correspondían a la absorción selectiva de la luz por parte de los elementos presentes en la atmósfera solar, constituyendo así una especie de "huella dactilar" correspondiente a la composición química de la atmósfera del Sol.

El espectroscopio les permitió a Bunsen y Kirchoff descubrir dos nuevos elementos: rubidio y cesio, cuyos nombres hacen precisamente referencia al color de sus líneas espectrales características. Esta nueva técnica se aplicó en el descubrimiento de nuevos elementos en los años posteriores, incluyendo el helio, que fue observado en el Sol antes que en nuestro propio planeta.

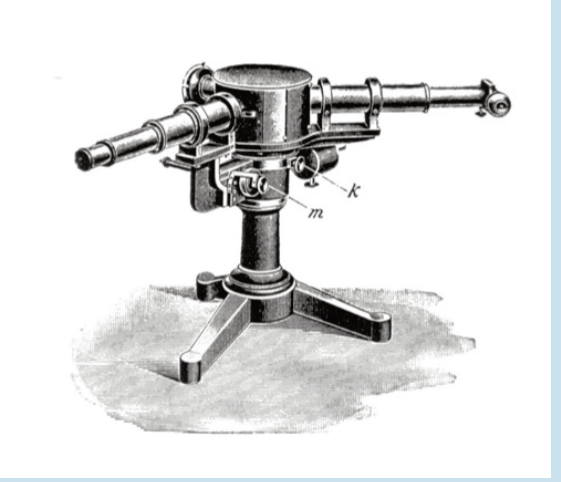


Figura 6.2
Modelo de espectroscopio de prisma del siglo XIX

6.1.1. Características de la radiación electromagnética

La radiación electromagnética es una forma de energía radiante constituida por un campo eléctrico y un campo magnético combinados que oscilan en forma de onda transversal y que se transmite en el espacio a una velocidad aproximada de 300.000 km/s (figura 6.3).

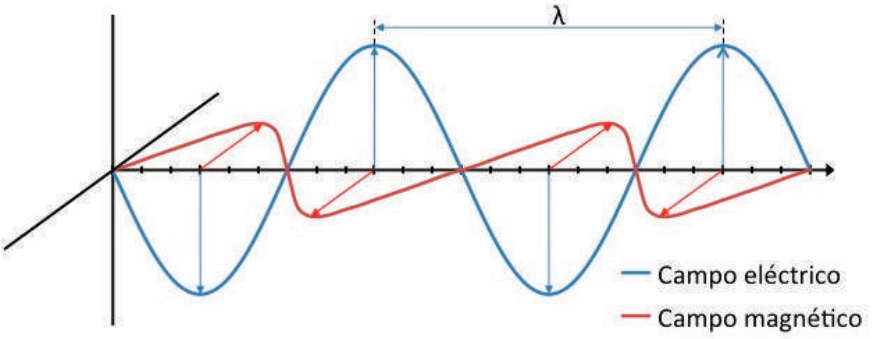


Figura 6.3
Representación de una onda electromagnética

La radiación electromagnética puede entonces ser descrita mediante los parámetros característicos de una onda:

- Amplitud (A): es el valor de la elongación máxima de la onda.
- Periodo (T): es el tiempo que dura una oscilación completa de la onda.
- Longitud de onda (λ): es la distancia entre dos puntos consecutivos de la onda que estén en fase, es decir, que presenten el mismo valor de la magnitud que oscila.
- Frecuencia (ν): es el número de veces que una onda oscila por unidad de tiempo; es una propiedad constante de la radiación, independiente del medio de propagación.
- Número de onda ($\overline{\nu} = 1/\lambda$): es el número de veces que vibra una onda en una unidad de longitud. Se utiliza para caracterizar la radiación electromagnética en determinadas espectroscopías en lugar de la frecuencia o la longitud de onda.
- Velocidad de propagación de la onda (V):

$$V = \frac{\lambda}{T} = \lambda \cdot \nu$$

A diferencia de la frecuencia, la velocidad y la longitud de onda dependen del medio en el que se transmite la radiación electromagnética.

La naturaleza ondulatoria de la radiación electromagnética ofrece una explicación adecuada de diversos fenómenos, como la reflexión, la refracción, la difracción, la dispersión o la polarización de la luz, que son la base sobre la que se fundamentan las técnicas de análisis ópticas no espectroscópicas. Sin embargo, este modelo ondulatorio no explica satisfactoriamente los fenómenos relacionados con la absorción y emisión de energía radiante por parte de la materia; estos fenómenos se explican mejor en el ámbito del modelo corpuscular en el que la radiación se comporta como un flujo de partículas o corpúsculos, denominados fotones o cuantos.

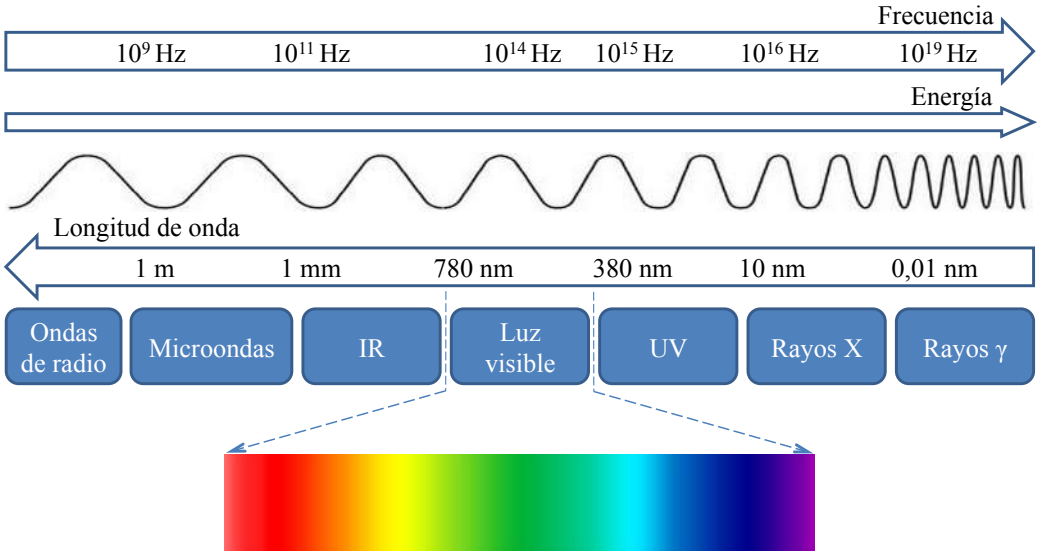


Figura 6.4
Espectro electromagnético

Ambos modelos, el ondulatorio y el corpuscular, son complementarios; de hecho la energía de un fotón está relacionada con la frecuencia de la onda asociada por medio de la ecuación:

$$E = \hbar \cdot \nu$$

La constante de Planck, $\hbar$, establece la proporcionalidad entre la frecuencia de la onda electromagnética (ν) y la energía del fotón asociado a la misma (E).

Según este modelo tanto la potencia como la intensidad de una radiación dependen de la cantidad de fotones que se transmiten en un haz. Así la potencia se puede definir como la energía total asociada a un haz de radiación electromagnética por unidad de tiempo, mientras la intensidad sería la potencia por unidad de superficie.

6.1.2. Interacciones espectroscópicas de la radiación electromagnética y la materia

La interacción de la radiación electromagnética con la materia implica diferentes tipos de transiciones entre los estados correspondientes a los diversos niveles energéticos de las especies químicas involucradas. En el caso concreto de una molécula, se puede considerar que su energía es la suma de la contribución de varios componentes:

$$E = E_{electrónica} + E_{vibracional} + E_{rotacional} + (E_{traslacional}) + (E_{nuclear})$$

La *energía traslacional* está asociada al movimiento de traslación de un cuerpo. Este componente, más la energía vibracional y rotacional, constituyen globalmente la energía cinética de una molécula.

La *energía nuclear* es la que mantiene unidas las partículas que constituyen el núcleo de los átomos (protones y neutrones) y sólo se libera en el caso de reacciones nucleares de fusión o fisión, por lo que no se pone en juego en aquellos fenómenos en los que se conserva la integridad de los núcleos.

Los restantes componentes están relacionados con los fenómenos que dan origen a las técnicas espectroscópicas de análisis:

a) La *energía electrónica* está asociada a los diferentes estados electrónicos de una determinada especie química (átomo o molécula), definidos por el movimiento de los electrones, con carga negativa, alrededor del núcleo, con carga eléctrica positiva.

b) La energía *vibracional* está asociada al movimiento de oscilación de los átomos que forman una molécula, con respecto a su posición de equilibrio (las diferentes formas en las que pueden vibrar los enlaces).

c) La energía *rotacional* está asociada a los estados de rotación que puede adoptar una molécula (movimiento de rotación de la molécula con respecto a su centro de masas).

Estos últimos niveles, vibracional y rotacional, no existen en el caso de átomos o iones monoatómicos, en los que no hay enlaces a los que se puedan asociar los estados energéticos vibracionales o rotacionales.

Para cada uno de los niveles energéticos mencionados, los átomos, iones o moléculas que constituyen la materia sólo pueden adoptar determinados estados, caracterizados por cantidades discretas de energía. Cada estado energético electrónico incluye varios estados vibracionales superpuestos, que a su vez incorporan varios estados rotacionales (figura 6.5).

En ausencia de cualquier tipo de estímulo las especies químicas que constituyen la materia se encuentran predominantemente en su estado energético más bajo, denominado *estado fundamental o basal*. La aplicación de determinados estímulos (energía térmica, radiación electromagnética, reacción química) puede producir la absorción de energía por parte de las especies químicas presentes en la muestra, promoviendo así una transición a un estado de mayor energía (*estado excitado*).

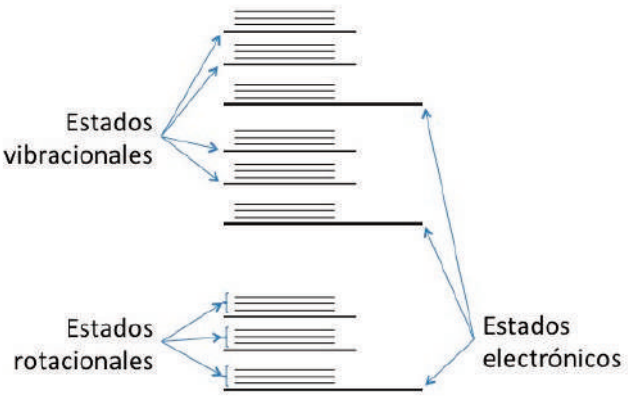


Figura 6.5
Diagrama con diferentes estados energéticos de los niveles rotacional, vibracional y electrónico

Por otro lado, una especie química que se encuentre en un estado energético excitado puede volver a un estado energético fundamental, en lo que se denomina *relajación*, mediante diferentes procesos: la energía excedente al volver al estado fundamental puede bien disiparse en forma de energía térmica mediante colisiones entre las diferentes partículas (moléculas, átomos o iones), o bien puede ser emitida en forma de radiación electromagnética, constituida por fotones con una energía igual a la de la transición entre el estado energético excitado de partida y otro de menor energía.

En cualquiera de las transiciones que tienen lugar entre dos estados energéticos dados, la cantidad de energía absorbida o emitida corresponde exactamente a la diferencia energética entre los estados inicial y final. Si estas transiciones energéticas se realizan a través de la absorción o emisión de radiación electromagnética, la frecuencia de dicha radiación se puede relacionar con la diferencia de energía entre los estados implicados en la transición mediante la siguiente ecuación:

$$E_{final} - E_{inicial} = \hbar \cdot \nu$$

La figura 6.6 muestra las diferentes transiciones que pueden tener lugar en una especie molecular, con niveles rotacionales, vibracionales y electrónicos:

a) *Transiciones rotacionales:* la energía de la radiación incidente no es suficiente para originar transiciones entre niveles vibracionales o electrónicos. El espectro está constituido por líneas discretas, correspondiente cada una de ellas a una transición determinada.

   La radiación implicada en estas transiciones corresponde a la región del infrarrojo lejano y de las microondas. La energía absorbida se invierte en modificar la rotación de las moléculas alrededor de su centro de gravedad.

   La espectroscopía de microondas resulta útil para la elucidación de estructuras moleculares y estructuras electrónicas de moléculas. Ha resultado una técnica valiosa en investigación en astroquímica, sin embargo en análisis químico su utilidad es limitada.

b) *Transiciones vibracionales/rotacionales:* tienen lugar desde el estado energético fundamental hasta los diferentes estados rotacionales correspondientes a un estado vibracional excitado; el resultado es un espectro formado por bandas estrechas que engloban, cada una de ellas, a todas las transiciones a estados rotacionales asociados a un mismo estado vibracional.

La radiación implicada corresponde a la región de infrarrojo y la energía absorbida se invierte en la modificación de los modos de vibración interatómica de la molécula.

La espectroscopía de infrarrojo es una técnica de gran utilidad en la elucidación de estructuras moleculares e identificación de compuestos, especialmente orgánicos.

c) *Transiciones electrónicas/vibracionales/rotacionales:* la energía absorbida es suficiente para originar saltos entre el estado fundamental y estados electrónicos excitados, que al tener superpuestos los niveles vibracional y rotacional originan una multitud de líneas de absorción, próximas entre sí, que se muestran en el espectro como bandas de absorción más o menos anchas.

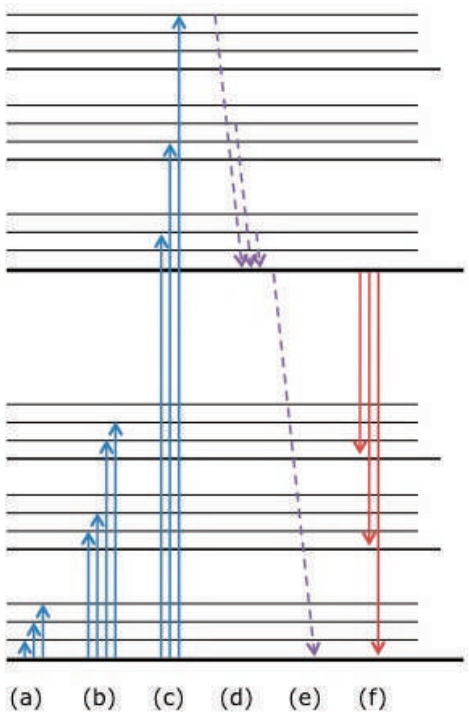


Figura 6.6
Diagrama con las diferentes transiciones que pueden tener lugar en una especie molecular, con niveles rotacionales, vibracionales y electrónicos

La energía implicada en estas transiciones corresponde a la región ultravioleta y visible del espectro. Las transiciones electrónicas que tienen lugar en la región visible son las responsables del color que percibimos mediante el sentido de la vista.

La espectroscopía ultravioleta-visible es una de las técnicas más extendidas en el ámbito del análisis químico, siendo especialmente útil para obtener información cuantitativa.

d) *Relajación vibracional:* tras la absorción tiene lugar la pérdida de la energía acumulada en estados vibracionales y rotacionales superpuestos al estado electrónico excitado correspondiente. Esta pérdida de energía tiene lugar sin emisión de radiación, transfiriéndose de unas moléculas a otras mediante colisiones, disipándose finalmente en forma de calor.

e) *Desactivación sin emisión de radiación:* la energía acumulada en los estados electrónicos excitados puede perderse en forma de calor de la misma manera que en el proceso anterior.

f) *Fenómenos de fotoluminiscencia:* cuando tras la absorción y la pérdida de energía por relajación vibracional la molécula se encuentra en el estado vibracional inferior de un estado electrónico excitado puede relajarse hasta el estado electrónico fundamental emitiendo el exceso de energía en forma de radiación electromagnética. Según el proceso por el que tiene lugar esta emisión se distingue entre fluorescencia y fosforescencia, siendo la base cada uno de estos fenómenos de una técnica espectroscópica diferente.

Teniendo en cuenta que cada especie química tiene una distribución diferente de estados energéticos, tanto electrónicos como rotacionales y vibracionales, las técnicas espectroscópicas de análisis pueden aportar información sobre la muestra al medir la intensidad y la frecuencia de la radiación que ha sido absorbida por la misma al ser irradiada, o bien midiendo la frecuencia e intensidad de la radiación emitida cuando la especie pasa del estado excitado al fundamental.

6.2. Clasificación de las técnicas espectroscópicas

6.2.1. Clasificación según el tipo de fenómeno espectroscópico

Una primera clasificación de las técnicas espectroscópicas estaría basada en el tipo de transiciones entre los distintos niveles energéticos que tienen lugar al interaccionar la radiación electromagnética con la muestra; así podemos encontrar las siguientes técnicas:

- *Espectroscopía de absorción:* se hace incidir una radiación electromagnética sobre la muestra, que absorbe aquella radiación cuya frecuencia corresponde a la diferencia de energía entre los estados implicados. Se mide la atenuación que sufre el haz de radiación incidente una vez que se transmite a través de la muestra (figura 6.7.a).
- *Espectroscopía de emisión:* se mide la frecuencia e intensidad de la radiación electromagnética emitida por la muestra después de que haya sido sometida a un proceso de excitación mediante alguna forma de energía no radiante como puede ser el calor generado por una llama o una antorcha de plasma, o bien por una descarga eléctrica entre dos electrodos (figura 6.7.b).
- *Espectroscopía de quimioluminiscencia:* en este caso se mide la emisión de radiación por parte de una especie excitada como consecuencia de una reacción química (figura 6.7.b).
- *Espectroscopía de fotoluminiscencia (fluorescencia y fosforescencia):* la muestra es sometida a un proceso de excitación mediante absorción de radiación electromagnética y posteriormente tiene lugar un proceso de desexcitación mediante emisión de radiación (figura 6.7.c).

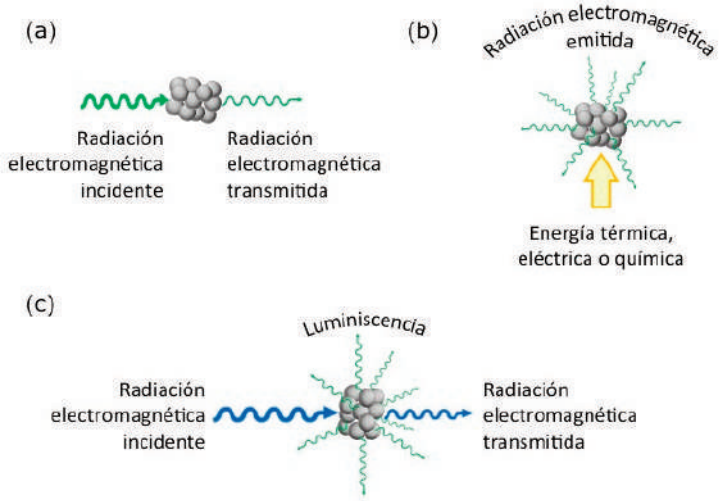


Figura 6.7
(a) Fenómeno de absorción; (b) fenómeno de emisión y quimioluminiscencia; (c) fenómeno de fotoluminiscencia

En todos los casos se puede obtener información cualitativa, a partir de las características de la radiación emitida o absorbida, e información cuantitativa a partir de la relación entre la intensidad emitida o absorbida por la muestra y la concentración del analito responsable de esta emisión o absorción.

6.2.2. Clasificación según la naturaleza de la especie química involucrada

La presencia o ausencia de enlaces condiciona, limitando o permitiendo, el tipo de instrumentación que se puede emplear en cada caso, dando pie así a la existencia de una instrumentación específica para cada caso.

- *Espectroscopía atómica:* las especies involucradas son átomos, por lo que sólo hay transiciones entre estados electrónicos; los espectros atómicos están formados por líneas.
- *Espectroscopía molecular:* al haber enlaces presentes las transiciones energéticas involucran a los niveles vibracionales y rotacionales; los espectros moleculares están formados por bandas más o menos anchas.

6.2.3. Clasificación según la región del espectro

Como se ha visto en la figura 6.6, la absorción de radiación de diferentes regiones del espectro electromagnético origina diferentes tipos de transiciones:

- *Espectroscopía de microondas:* transiciones entre estados rotacionales.
- *Espectroscopía de infrarrojo:* transiciones vibracionales.
- *Espectroscopía ultravioleta/visible (UV/vis):* transiciones electrónicas.
- *Espectroscopía de rayos X:* la absorción de rayos X puede promover transiciones electrónicas en las capas internas del átomo.

Resumen

Las técnicas espectroscópicas de análisis químico se basan en la medida de la radiación electromagnética absorbida o emitida por la materia. Estos fenómenos de absorción y emisión de radiación están relacionados con transiciones entre diferentes niveles energéticos de las moléculas, iones o átomos que constituyen la materia, y su estudio puede aportar información tanto cualitativa como cuantitativa sobre las especies químicas presentes en la muestra que se analiza.

Las técnicas espectroscópicas se pueden clasificar en función de diferentes criterios:

- Según el tipo de fenómeno en el que se basan: técnicas de absorción, emisión, quimioluminiscencia y fotoluminiscencia.
- Según la naturaleza de la especie química involucrada: técnicas espectroscópicas atómicas o moleculares.
- Según la región del espectro electromagnético en la que se halla la radiación que se utiliza: microondas, infrarrojo, ultravioleta-visible y rayos X.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. La radiación de la región visible del espectro electromagnético está involucrada en transiciones:
   - ☐ *a)* Electrónicas.
   - ☐ *b)* Vibracionales.
   - ☐ *c)* Rotacionales.
2. En el caso de especies químicas atómicas las transiciones que pueden tener lugar corresponden a los niveles:
   - ☐ *a)* Electrónico, vibracional y rotacional.
   - ☐ *b)* Sólo vibracionales y rotacionales
   - ☐ *c)* Sólo electrónico.
3. El número de veces que vibra una onda por unidad de longitud se denomina:
   - ☐ *a)* Longitud de onda.
   - ☐ *b)* Número de onda.
   - ☐ *c)* Amplitud.

4. El proceso de relajación tienen lugar:
   - ☐ *a)* Siempre mediante emisión de radiación electromagnética.
   - ☐ *b)* Únicamente mediante disipación de la energía en forma de calor.
   - ☐ *c)* Mediante emisión de radiación o disipación térmica.

5. En las técnicas de fotoluminiscencia se mide:
   - ☐ *a)* La radiación electromagnética emitida por una especie química tras ser previamente excitada mediante irradiación.
   - ☐ *b)* La radiación electromagnética emitida por una especie química tras ser previamente excitada mediante una reacción química.
   - ☐ *c)* La radiación electromagnética emitida por una especie química tras ser previamente excitada mediante energía térmica.

SOLUCIONES:

1. **a** b c
2. a b **c**
3. a **b** c
4. a b **c**
5. **a** b c

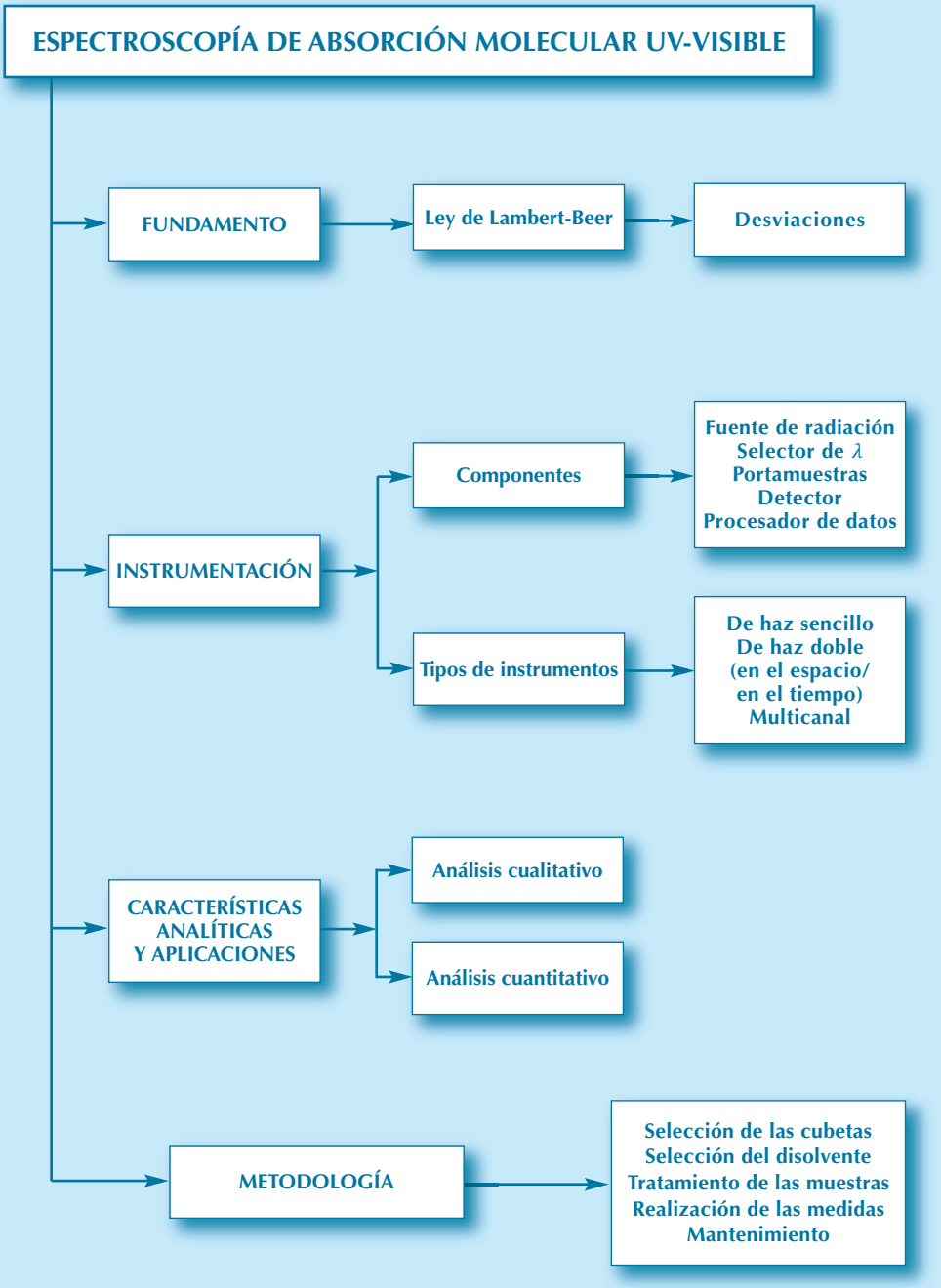
7

Espectroscopía de absorción molecular UV-visible

Objetivos

1. Comprender el fundamento básico de la espectroscopía de absorción molecular ultravioleta-visible y las características analíticas de la técnica.
2. Conocer los distintos módulos instrumentales que componen un espectrofotómetro, y su funcionamiento y manejo básico.
3. Aprender y practicar la metodología para la aplicación de la técnica al análisis de distintas muestras.

Mapa conceptual del capítulo



Glosario

Diodo. Dispositivo electrónico que permite la circulación de corriente eléctrica a través de él en un solo sentido.

Interferencia. Superposición de dos o más ondas, que puede ser constructiva o destructiva, y a partir de la cual se origina una onda nueva.

LED. Diodo emisor de luz; presenta un bajo consumo de energía, vida útil muy larga, reducido tamaño y alta resistencia mecánica.

Radiación monocromática. Radiación electromagnética de una única longitud de onda; en la práctica no es fácil conseguir una radiación absolutamente monocromática, por lo que este término suele referirse a una radiación constituida por un estrecho intervalo de longitudes de onda.

Radiación policromática. Radiación electromagnética constituida por un conjunto amplio de longitudes de onda.

7.1. Fundamento

Esta técnica se basa en la absorción, por parte del analito, de radiación electromagnética de la región ultravioleta (UV) y visible del espectro. La radiación ultravioleta corresponde a longitudes de onda desde 10 a 380 nm aproximadamente. En la espectroscopía UV se hace uso únicamente de la región denominada ultravioleta próximo, de 180 a 380 nm, ya que la radiación UV entre 10 y 180 nm (UV lejano) es absorbida por el oxígeno del aire, por lo que se hace necesario llevar a cabo las medidas en ausencia de este gas, lo que resulta en un mayor grado de complejidad instrumental. Por otro lado la región visible del espectro se extiende desde los 380 a los 780 nm.

La energía asociada a la radiación UV-visible es de magnitud suficiente como para ser absorbida en transiciones entre niveles energéticos electrónicos. La energía absorbida se disipa posteriormente en forma de calor. El proceso que tiene lugar se puede representar mediante la siguiente expresión:

$$A + \hbar v \rightarrow A^* \rightarrow A + calor$$

Donde A y A^* representan respectivamente a una especie química en estado fundamental y la misma en estado excitado. El producto $\hbar v$, donde $\hbar$ es la constante de Planck y v la frecuencia de la radiación electromagnética incidente, es una forma habitual de representar la energía correspondiente a dicha radiación.

Cuando la radiación electromagnética incide sobre la materia, ésta absorbe aquellas frecuencias que proporcionan la energía exacta que corresponde a una transición desde el estado fundamental a uno o más de los posibles estados excitados.

Un espectro de absorción representa la distribución de la energía absorbida por una especie química en función de la frecuencia o longitud de onda de la radiación involucrada en el proceso.

Puesto que en el caso de especies poliatómicas cada estado electrónico engloba estados vibracionales, y estos a su vez estados rotacionales, los espectros están formados por bandas anchas, en las que están comprendidas todas las transiciones a estados energéticos vibracionales y rotacionales dentro de un estado electrónico excitado determinado (figura 7.1).

Las diferencias energéticas entre el estado fundamental y los estados excitados son únicas para cada especie, por lo que el análisis de las frecuencias absorbidas aporta información sobre la identidad de los constituyentes de una muestra.

Por otro lado, la cantidad de energía transferida desde una determinada radiación monocromática a una especie química concreta depende de la concentración de esta especie en la muestra analizada. Esta relación proporciona un medio para cuantificar la presencia de un determinado analito.

La medida de la intensidad (o potencia) de la radiación que ha sido absorbida se realiza indirectamente a partir de la intensidad (o potencia) de la radiación incidente (I_0) y de la transmitida (I_t) a través de la muestra (figura 7.3). Para ello es necesario definir dos términos que se relacionan con los anteriores: la transmitancia y la absorbancia.

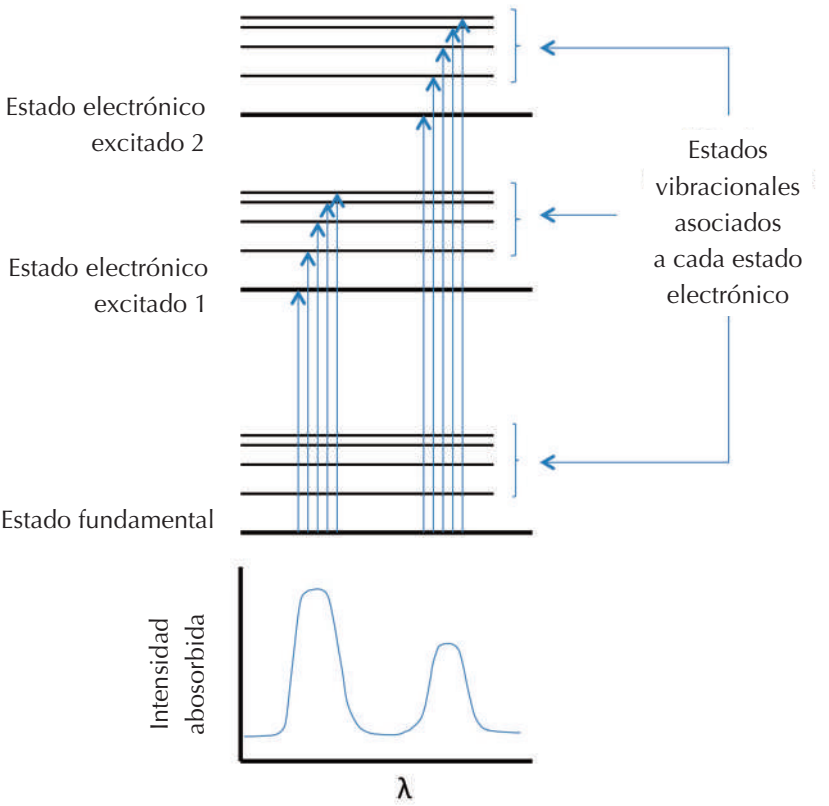


Figura 7.1
Técnicas espectroscópicas de absorción (los estados del nivel rotacional han sido omitidos en pro de la claridad)

PARA SABER MÁS

Los colores que percibe el ojo humano corresponden al conjunto de radiaciones electromagnéticas con longitudes de onda de 380 a 780 nm que se denominan luz visible o simplemente luz. Cuando la luz visible incide sobre la materia puede ser absorbida selectivamente en función de su composición. La luz no absorbida puede ser transmitida a través de la materia o bien reflejada por su superficie, en función de su grado de transparencia.

La absorción de todas las longitudes de onda de la luz visible origina el color negro, mientras que un cuerpo opaco que refleje todas las longitudes de onda se percibe de color blanco; los colores surgen entonces como el resultado de la impresión que las longitudes de onda no absorbidas producen en la retina (figura 7.2).

El color no es por tanto una propiedad inherente de la materia, sino que depende de la iluminación que recibe, y de otros factores individuales y subjetivos.

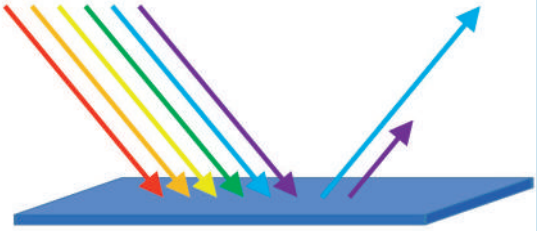


Figura 7.2
Origen del color

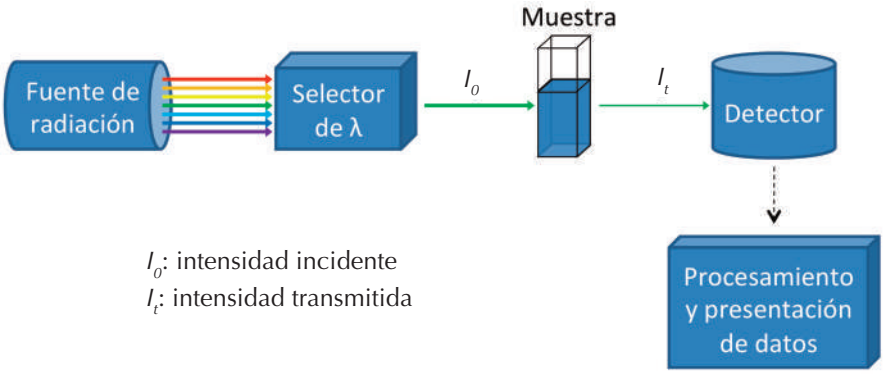


Figura 7.3
Esquema básico de un instrumento de absorción molecular UV-visible

La transmitancia se define como la relación entre la intensidad transmitida y la incidente, siendo habitual también expresarla como porcentaje:

$$T = \frac{I_t}{I_O} \qquad o\ bien: \qquad T(\%) = \frac{I_t}{I_O} \cdot 100$$

La absorbancia se define de la siguiente forma:

$$A = \log \frac{1}{T} = 2\text{-}\log T(\%)$$

Es decir, a medida que la energía se transfiere desde la radiación electromagnética a la materia se produce una disminución de la transmitancia y un aumento de la absorbancia.

- *Ley de Lambert-Beer*

En el caso de que se considere una radiación monocromática se verifica que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la especie responsable de la absorción. Esta relación se conoce como ley de Lambert-Beer y se representa matemáticamente con la siguiente ecuación:

$$A = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

- ε representa la absorbancia específica o absortividad de la especie que absorbe. Depende de la naturaleza del cromóforo y de las condiciones experimentales (disolvente, temperatura, pH…); por eso, aunque estos valores se pueden encontrar tabulados para muchas sustancias químicas, se hace necesario un calibrado analítico para determinar exactamente la relación entre la absorbancia y la concentración del analito en las condiciones del análisis.
- l es el paso óptico: longitud atravesada por la radiación electromagnética a través del medio absorbente.
- c es la concentración de la especie absorbente (o del cromóforo).

PARA SABER MÁS

Grupos cromóforos y auxocromos

La capacidad de absorber radiación electromagnética en una molécula se debe a la presencia de determinados grupos funcionales (dobles y triples enlaces carbono-carbono, anillos aromáticos, grupo carbonilo, etc.); son los denominados grupos cromóforos.

Pueden existir otros grupos funcionales que por sí solos no absorben radiación, pero que modifican las características de la absorción por parte de los grupos cromóforos; son los denominados auxocromos.

Los grupos auxocromos tienen los siguientes efectos sobre los cromóforos:

- *Desplazamiento batocrómico:* la absorción del cromóforo se desplaza hacia mayores longitudes de onda.
- *Desplazamiento hipsocrómico:* la absorción del cromóforo se desplaza hacia menores longitudes de onda.
- *Efecto hipsocrómico:* aumenta la capacidad de absorción del grupo cromóforo, y consecuentemente la intensidad de la banda de absorción.
- *Efecto hipocrómico:* disminuye la capacidad de absorción del cromóforo, y por tanto la intensidad de la banda de intensidad de absorción.

Cuando en la muestra hay presentes varias especies que absorben la misma frecuencia de radiación la absorbancia que se obtiene es la suma de las correspondientes a cada una de las especies; es importante por tanto que no haya especies interferentes en una muestra que absorban la misma frecuencia que el analito.

La cubeta donde se coloca la muestra, así como el disolvente, pueden dar lugar a efectos indeseables de reflexión o dispersión, además de absorción, debido a la presencia de imperfecciones, partículas de polvo, impurezas, etc. Por ello se hace necesario compensar dichos efectos mediante la medida de un blanco, como se verá en el apartado correspondiente a la metodología.

- *Desviaciones de la ley de Lambert-Beer*

La ley de Lambert-Beer presenta en ocasiones desviaciones de la linealidad. En algunos casos se trata de limitaciones inherentes a la ley conocidas como desviaciones reales, mientras que en otros casos son desviaciones denominadas aparentes.

A) Desviaciones reales

A concentraciones altas (suele ocurrir con concentraciones de analito superiores a 0,01 M o con concentraciones altas de otras especies) aumentan las interacciones entre las moléculas de soluto entre ellas o con el disolvente, con lo que se modifica la capacidad de las especies químicas para absorber la radiación.

Otra causa que puede explicar estas desviaciones es la influencia de la concentración en el índice de refracción de la disolución analizada, lo que provoca una disminución en la capacidad de absorción.

B) Desviaciones aparentes

Pueden ser debidas a procesos químicos en los que se ve involucrado el analito, o bien a las características del sistema instrumental con el que se lleva a cabo la medición.

B.1. *Desviaciones químicas*

Aparecen como consecuencia de procesos químicos en los que participan las especies absorbentes, como pueden ser asociación, disociación o interacciones con el disolvente o con otras especies presentes, formando productos de diferente absorbancia específica. En general, cualquier factor que modifique el equilibrio químico en el que estén involucradas las especies absorbentes origina este tipo de desviaciones, que pueden ser tanto negativas como positivas. Un ejemplo típico es la descomposición del dicromato en cromato cuando se diluye una disolución no tamponada del primero, según el siguiente equilibrio:

$$Cr_2O_7^{2-} + H_2 \rightleftarrows 2CrO_4^{2-} + 2H^+$$

B.2. *Desviaciones del sistema instrumental*

Uno de los factores que pueden ocasionar este tipo de desviaciones es la utilización de radiación no monocromática, lo que en sentido estricto ocurre siempre, ya que en la práctica no es posible aislar una radiación absolutamente monocromática. Si la banda de longitudes de onda que incide sobre la muestra es suficientemente estrecha y corresponde exactamente con el máximo de absorción, la absorbancia se puede considerar prácticamente constante. En cambio, si la banda seleccionada incluye longitudes de onda a las que la absorbancia sea significativamente diferente, se pueden producir desviaciones negativas (figura 7.4).

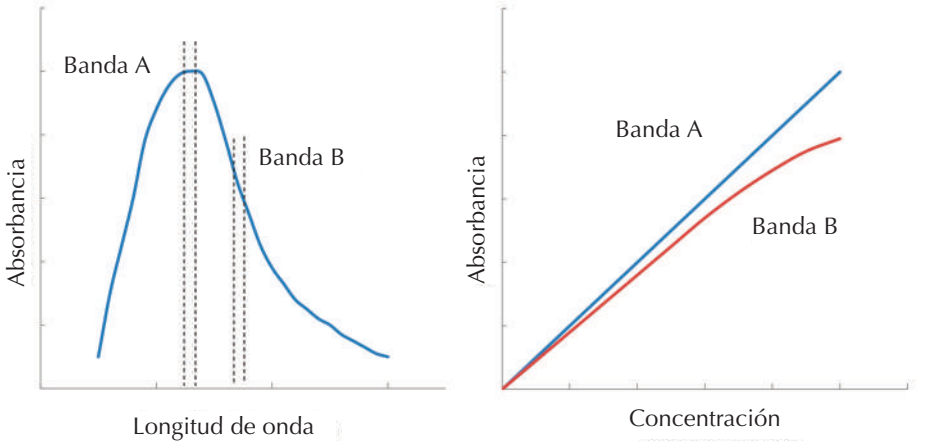


Figura 7.4
Desviación de la ley de Lambert-Beer debida a la utilización de radiación no monocromática

Otra de las causas de las desviaciones aparentes debidas al sistema instrumental es la presencia de radiaciones parásitas provenientes de la reflexión y la dispersión de las superficies de los distintos componentes del instrumento (rejillas, lentes, espejos, etc.) lo que origina desviaciones negativas.

La utilización de celdas portamuestras desajustadas (con características ópticas no equivalentes) al realizar la medida del blanco y del analito también puede provocar una desviación de la ley, por lo que se recomienda la utilización de celdas emparejadas. La calibración analítica por regresión lineal contribuye a la minimización de este efecto. En el caso de instrumentos de haz simple, en los que todas las medidas se realizan en la misma posición, también se puede evitar este problema utilizando siempre la misma cubeta, lavando y enjuagando entre medida y medida.

7.2. Instrumentación

Los componentes básicos de un instrumento de absorción molecular ultravioleta-visible son los siguientes: fuente de radiación, sistema de selección de la longitud de onda, recipiente portamuestras, detector y módulo de procesamiento, presentación y registro de la señal (figura 7.3).

Todos los elementos que se encuentren en el camino óptico deben estar construidos en el material adecuado para que tenga lugar la transmisión de la radiación (celdas portamuestras, ventanas de las fuentes de radiación, lentes, espejos, selectores de longitud de onda).

7.2.1. Componentes de los instrumentos

A) Fuente de radiación

Una fuente de radiación ideal debe reunir los siguientes requisitos:

- Una potencia de emisión suficientemente elevada como para poder detectar y medir con precisión la radiación electromagnética.
- La radiación emitida debe ser estable en el tiempo. Además de una deriva continua, la potencia o intensidad de la radiación emitida por la fuente varía con el voltaje de alimentación, por lo que es habitual utilizar reguladores o estabilizadores de tensión.
- La intensidad de la emisión debe ser constante en todo el intervalo de longitudes de onda.

Esta última es una situación ideal que no se da en la práctica, por lo que es necesario limitarse a la utilización de fuentes continuas, es decir, aquellas que presentan una emisión cuya intensidad varía de manera gradual con la longitud de onda. Frente a las fuentes continuas podemos encontrar fuentes de líneas, que emiten únicamente determinadas longitudes de onda (figura 7.6). Estas fuentes se emplean en instrumentos diseñados para trabajar con longitudes de onda discretas, con lo que no se puede realizar un barrido, o bien en otro tipo de técnicas espectroscópicas, o incluso como detectores en cromatografía. Ejemplos de ambos tipos de fuentes se pueden ver en el cuadro 7.1.

Las fuentes de radiación más utilizadas en la región UV-visible son básicamente de dos tipos: lámparas térmicas y lámparas de descarga eléctrica.

A.1. *Lámparas térmicas*

En este grupo la más común es la lámpara de wolframio (figura 7.5.a), cuyo funcionamiento se basa en la emisión de radiación por efecto de la temperatura a la que se somete un filamento de este metal al conducir a través de él una corriente eléctrica. Un mayor voltaje produce un incremento de la temperatura, que a su vez da lugar a un aumento de la intensidad global emitida, a la vez que desplaza el máximo de emisión hacia la zona infrarroja; sin embargo en estas condiciones el tiempo de vida de la lámpara se acorta.

Una variante de este tipo de lámpara es la de wolframio-halógeno, que tiene un mayor intervalo de emisión en la zona de trabajo, mayor intensidad global de emisión y mayor tiempo de vida útil.

Como se puede ver en el cuadro 7.1 y en la figura 7.6, estas lámparas son válidas para trabajar en la región visible e infrarrojo cercano.

CUADRO 7.1
Fuentes de radiación para espectroscopía

	Fuente de radiación	Región del espectro	Tipo de espectroscopía
Fuentes continuas	Lámpara de wolframio	350-2200 nm (UV-visible/IR cercano)	Absorción molecular visible/IR cercano
	Lámpara de wolframio-halógeno	240-2500 nm (UV-visible/IR cercano)	Absorción molecular UV-visible/IR cercano
	Lámpara de hidrógeno o deuterio	160-380 nm (UV)	Absorción molecular UV
	Lámpara de arco de xenon	250-600 nm (UV-visible)	Fluorescencia molecular, espectroscopía Raman
Fuentes de líneas	Lámpara de cátodo hueco	UV-visible	Absorción atómica, fluorescencia atómica
	Lámpara de descarga sin electrodos	UV-visible	Absorción atómica, fluorescencia atómica
	Lámpara de vapor metálico	UV-visible	Absorción atómica, fluorescencia atómica, espectroscopía Raman
	Emisor láser	UV-visible/IR	Absorción molecular, fluorescencia molecular, espectroscopía Raman

A.2. *Lámparas de descarga eléctrica*

Estas lámparas funcionan mediante la producción de descargas eléctricas en el seno de un gas, cuyas moléculas se excitan y a continuación se relajan emitiendo un espectro de líneas que se ensanchan a medida que la presión del gas aumenta, dando lugar a un espectro de bandas. De este grupo la más usada en espectroscopía de absorción molecular UV-visible es la lámpara de hidrógeno/deuterio.

A este grupo pertenecen también las lámparas de vapor metálico, como la de mercurio, aunque en este caso, al tratarse de átomos el espectro de emisión, presenta líneas discretas (no hay niveles vibracionales ni rotacionales superpuestos al electrónico).

Los espectrofotómetros UV-visible vienen equipados con dos lámparas: una que emite en la región UV (lámpara de hidrógeno/deuterio habitualmente) y otra para trabajar en la región visible (de wolframio o wolframio-halógeno). El instrumento selecciona automáticamente la lámpara adecuada al cambiar de la región UV a la visible (aproximadamente a 350 nm).

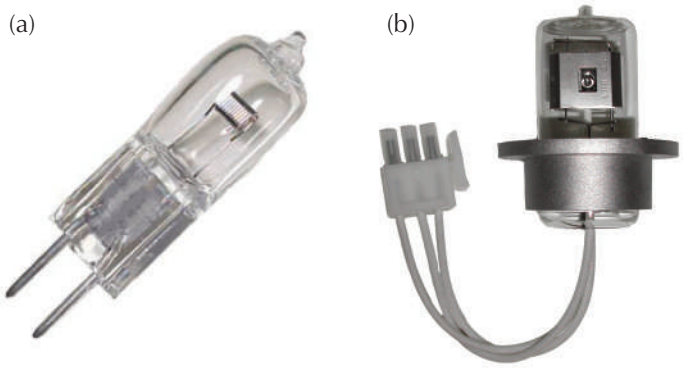


Figura 7.5
(a) Lámpara de wolframio y (b) lámpara de deuterio

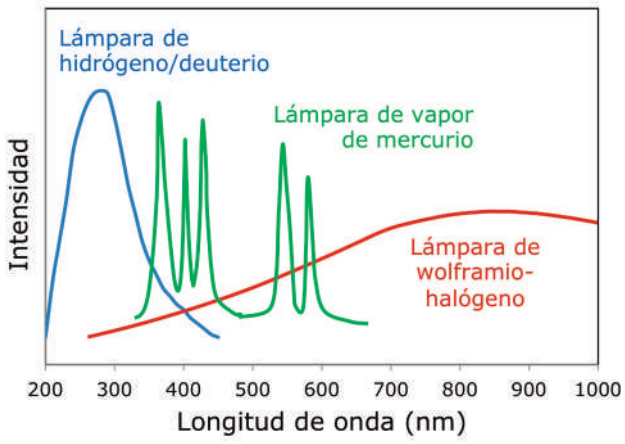

Lámpara de hidrógeno/deuterio
Lámpara de vapor de mercurio
Lámpara de wolframio-halógeno
Intensidad
200 300 400 500 600 700 800 900 1000
Longitud de onda (nm)

Figura 7.6
Espectros de emisión de algunas lámparas habituales en espectroscopía UV-visible

Actualmente se están incorporando como fuentes de radiación en la región visible los diodos emisores de luz (LED). Pueden combinarse LED de diferentes colores para conseguir un espectro de emisión prácticamente continuo, o bien emplear LED de luz blanca. Tienen una vida útil más larga que las lámparas de wolframio.

B) Selector de longitud de onda

La radiación que se haga incidir sobre la muestra debe ser monocromática para que se cumpla la ley de Lambert-Beer, evitando además las desviaciones de la ley. Además, una radiación mo-

nocromática proporciona mayor selectividad: cada una de las especies presentes absorberá una frecuencia distinta, de manera que cuanto mayor sea el intervalo de frecuencias de la radiación incidente, más posibilidad hay de que la atenuación de la señal se deba a la absorción por parte de especies diferentes. Otra consecuencia de la utilización de radiación monocromática es una mayor sensibilidad: cuanto más ancho sea el intervalo de frecuencias de la radiación incidente, mayor será la fracción que no pueda ser absorbida por no proporcionar una energía adecuada para que tenga lugar un salto espectroscópico, y por tanto menor será la fracción absorbida, con la consiguiente disminución de la señal.

Aunque idealmente los sistemas de selección deberían reducir la radiación incidente sobre la muestra a una sola longitud de onda, en la práctica lo que se consigue es una banda más o menos estrecha de longitudes de onda. Esta banda se caracteriza por su longitud de onda nominal y por el ancho de banda efectivo o paso de banda, que se suele considerar como intervalo de longitudes de onda que transmite el dispositivo selector medido a la mitad de la altura de dicha banda (figura 7.8).

En el cuadro 7.2 se muestran los diferentes sistemas que se utilizan para la obtención de radiación monocromática.

CUADRO 7.2
Sistemas habituales para la obtención de radiaciones monocromáticas

Filtros	De absorción	
	De interferencia	
Monocromadores	Prismas	
	Redes	De reflexión
		De transmisión

B.1. *Filtros*

Los filtros son dispositivos sencillos, resistentes y fácilmente manejables; cada filtro proporciona una determinada banda de radiación.

Los filtros de absorción (figura 7.7.a), cuya utilización se limita a la región visible, se basan en la absorción selectiva de porciones concretas del espectro. Normalmente consisten en un vidrio coloreado o una suspensión de un colorante en gelatina que se coloca entre dos láminas de vidrio. Son la alternativa más económica. Se utilizan en instrumentos sencillos en los que es habitual instalar varios filtros en un disco giratorio que permite la selección de determinadas longitudes de onda. El ancho de banda efectivo puede ser de 20-50 nm, por lo que no son adecuados para análisis en los que se requiera un alto grado de precisión y sensibilidad.

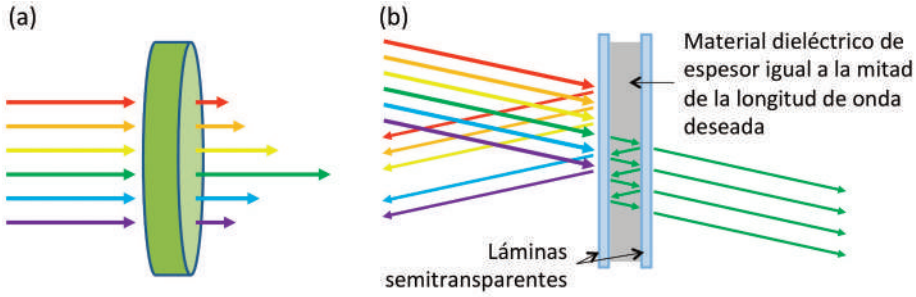


Figura 7.7
Funcionamiento de un filtro de absorción y de un filtro de interferencia

Los filtros de interferencia (figura 7.7.b) se basan en el fenómeno de la interferencia óptica. Consisten en una capa de material dieléctrico entre dos películas semitransparentes de metal, protegidas a su vez por dos capas de material transparente. En función del espesor de la capa de material dieléctrico se refuerza la transmisión de una determinada longitud de onda mientras que el resto de longitudes de onda incidentes sufren una interferencia destructiva. Estos filtros pueden actuar tanto en la región visible como en la infrarroja y ultravioleta. Presentan además mayor rendimiento que los anteriores: proporcionan bandas de radiación más estrechas (aproximadamente 10 nm) así como mayor transmitancia (figura 7.8).

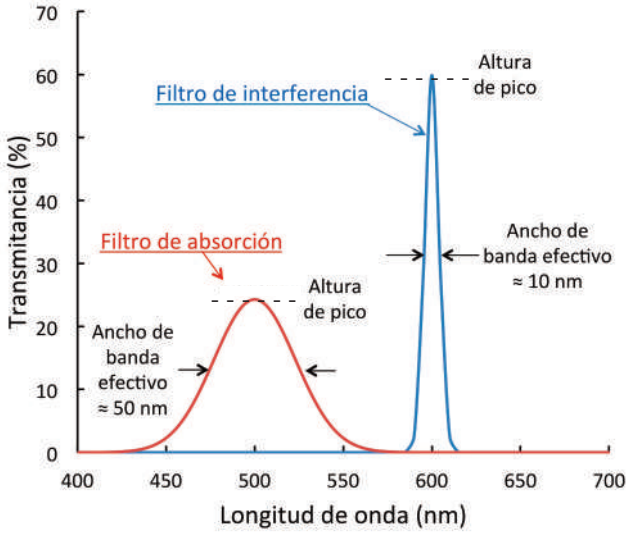


Figura 7.8
Características de transmisión típicas de los filtros de absorción e interferencia

B.2. *Monocromadores*

Los monocromadores descomponen una radiación policromática, dispersando las diferentes longitudes de onda que la forman; a partir de esta dispersión se puede seleccionar una radiación monocromática de la longitud de onda deseada. Estos dispositivos permiten variar de forma continua la longitud de onda de la radiación que incide sobre la muestra, realizando así un barrido del espectro.

Los componentes básicos de un monocromador son los siguientes:

- *Rendija de entrada.*
- *Lente o espejo colimador*, que produce un haz de radiación paralelo.
- *Elemento dispersor*; puede estar constituido por un prisma (figura 7.9), que actúa por refracción, o una red (figura 7.10), que da lugar a la difracción de la radiación incidente, produciendo en ambos casos la dispersión de la radiación en las longitudes de onda que la componen. Las redes de difracción ofrecen mejores prestaciones que los prismas y cada vez son más empleadas en la actualidad.
- *Lente o espejo de enfoque*: dirige y enfoca la radiación sobre el siguiente elemento.
- *Rendija de salida*: aísla la longitud de onda deseada.

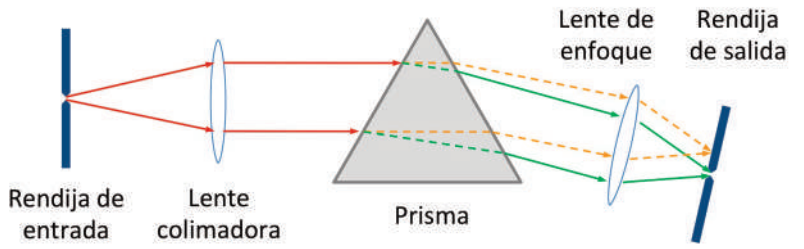


Figura 7.9
Monocromador de prisma

Como se ha dicho anteriormente, el selector de longitud de onda no es capaz de aislar una sola longitud de onda de la radiación del espectro continuo emitido por la fuente. Las rendijas de entrada y salida del monocromador determinan, junto a la calidad del elemento dispersivo (red o prisma), la anchura de banda. La abertura de estas rendijas se puede seleccionar mediante un mecanismo micrométrico. Esta selección resulta de un compromiso entre la intensidad de la radiación y la resolución deseadas: en análisis cuantitativo es preferible mayor intensidad, mientras que en análisis cualitativo se prefiere mayor resolución.

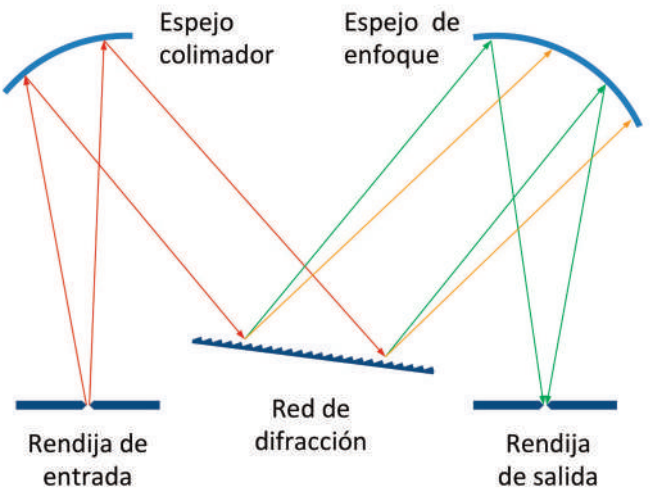


Figura 7.10
Monocromador de red de difracción

C) Compartimento y recipientes para la muestra

El compartimiento para la muestra es la parte física del instrumento en la cual se alojarán las celdas o cubetas de absorción. Éste por lo general es un espacio que presenta uno o más contenedores de muestra, y las aberturas para las lentes ópticas.

Por lo general se encuentra recubierto de una pintura no volátil, oscura y de muy baja reflexión, lo cual la hace altamente absorbente a un amplio rango de radiaciones.

El compartimiento de celdas debe estar diseñado para alojar una serie de accesorios opcionales (como por ejemplo: esfera de integración, microceldas, "*sipper*", etc.).

Las celdas o cubetas que se utilizan en espectroscopía UV-visible deben estar constituidas por materiales que no absorban radiación en la zona del espectro en la que se está trabajando. Así, en la región visible se suelen utilizar cubetas de vidrio de alta calidad, o como alternativa más económica pero de peores prestaciones, de poliestireno (siempre que el disolvente que se utilice sea compatible con este material). Para análisis en la región UV se utilizan cubetas de cuarzo o sílice fundida.

En el caso de las cubetas de vidrio, sílice o cuarzo es habitual que se vendan emparejadas, o en grupos de 4 o 6, para minimizar las diferencias y las consiguientes desviaciones de la ley de Lambert-Beer debidas al uso de cubetas desemparejadas o desajustadas.

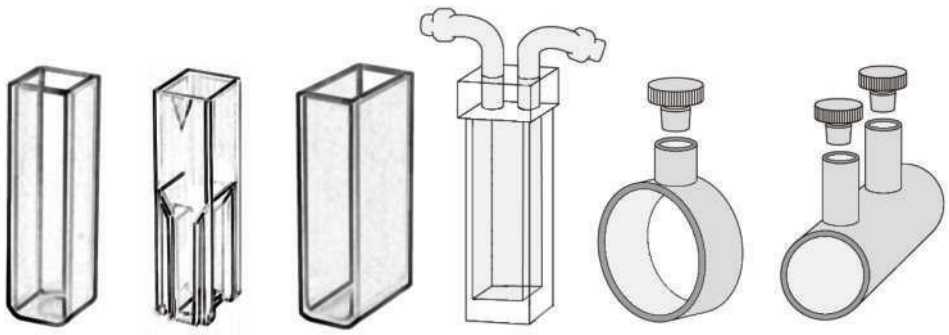


Figura 7.11
Diferentes tipos de cubetas utilizadas en espectroscopía de absorción molecular UV-visible

La figura 7.11 muestra algunos de los tipos de cubetas más habituales en espectroscopía de absorción molecular UV-visible. A continuación se mencionan algunas de las diferentes variantes que se pueden encontrar:

- Aunque el paso óptico más habitual es de 10 mm, se pueden encontrar cubetas con pasos ópticos desde 1 hasta 100 mm, para muestras que presentan muy altas o muy bajas absorbancias específicas respectivamente.
- Con objeto de disminuir costes, es habitual encontrar cubetas con dos caras paralelas perfectamente pulidas y transparentes, para alinear con la fuente de radiación y el detector, y las otras dos traslúcidas o rayadas, que son por las que se debe sujetar la cubeta.

- Si algún componente de la muestra de análisis es muy volátil, la evaporación puede provocar cambios en la absorbancia, o bien afectar a algún componente del instrumento, por lo que se recomienda en estos casos la utilización de cubetas con tapones.
- Las microcubetas permiten el análisis de pequeñas cantidades de muestra. En este caso hay que asegurarse de que coincida el haz de radiación incidente con el compartimento donde se contiene la muestra.
- Las celdas de flujo permiten bien el análisis continuo de un efluente, o bien ser utilizadas en un proceso automatizado que incluya el llenado, el vaciado y la limpieza de la celda por medio de un módulo robotizado.
- Existen celdas para muestras gaseosas, con forma cilíndrica y entrada y salida para la muestra, y la posibilidad de varios pasos ópticos.

Esta técnica espectroscópica se puede aplicar también directamente a muestras sólidas, midiendo en este caso el detector la intensidad reflejada por la muestra en lugar de la transmitida, como en el caso de muestras líquidas o gaseosas.

Si la muestra sólida presenta una superficie rugosa o está constituida por partículas de pequeño tamaño, se realiza la medida de lo que se denomina *reflectancia difusa*, que es la radiación reflejada por la superficie de la muestra en todas las direcciones del espacio. Para realizar esta medida se utiliza un dispositivo denominado *esfera integradora*, que recoge y envía al detector toda la radiación reflejada por la muestra, cualquiera que sea su dirección de salida (figura 7.12). Estas esferas integradoras se suelen presentar como módulos independientes que se pueden acoplar al espectrofotómetro mediante un cable de fibra óptica.

En caso de que la muestra sea un sólido de superficie pulida es posible realizar la medida de la *reflectancia especular*, en cuyo caso se hace incidir la radiación sobre la muestra en un ángulo oblicuo y se recoge la radiación reflejada en un ángulo simétrico con respecto a la radiación incidente.

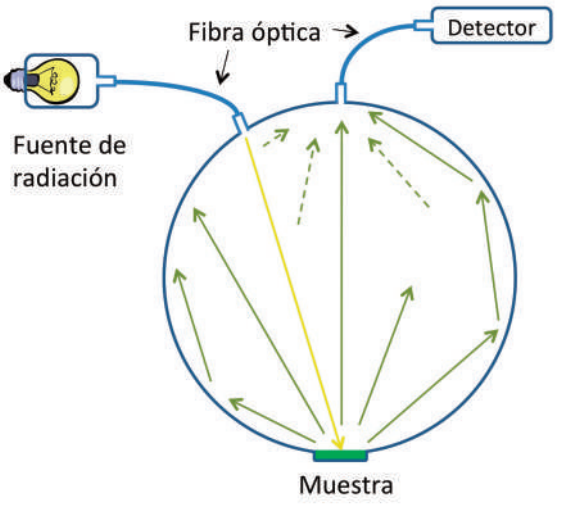


Figura 7.12
Esquema de una esfera integradora para la medida de la reflectancia difusa

D) Detectores

La detección de la radiación transmitida o reflejada por la muestra se realiza mediante transductores que generan una señal eléctrica de magnitud proporcional a la intensidad de la energía radiante incidente. Las propiedades que debe tener un detector ideal son las siguientes:

- Respuesta lineal y sensibilidad elevada.
- Alta relación señal/ruido.
- Señal de salida cero en ausencia de iluminación.
- Producción de una señal fácilmente amplificable.
- Respuesta constante en un amplio intervalo de longitudes de onda.
- Tiempo de respuesta rápido.

Existen básicamente dos tipos de detectores, los que generan una señal en respuesta a los fotones incidentes (detectores fotónicos) y los que responden al aumento de temperatura (detectores térmicos). Los detectores fotónicos son los que se emplean en la detección de la radiación de la región UV-visible, siendo los más habituales los siguientes:

- Fototubo.
- Fototubo multiplicador.
- Detector de fotodiodos.
- Detector de transferencia de carga.

D.1. *Fototubo*

El fototubo está constituido por un bulbo o tubo cerrado al vacío o relleno de un gas inerte; en su interior hay un hilo conductor que hace de ánodo, y un cátodo semicilíndrico, en cuya superficie cóncava se ha depositado una capa de material fotoemisor, entre los que se aplica una diferencia de potencial (figura 7.13.a).

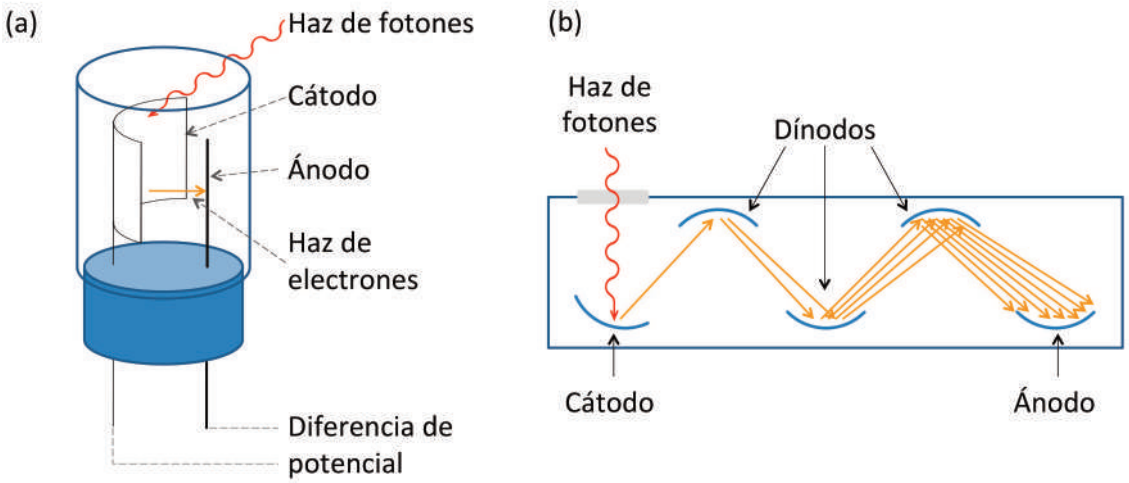


Figura 7.13
(a) Fototubo y (b) fototubo multiplicador

El fototubo funciona según el efecto fotoeléctrico: al incidir sobre el cátodo un fotón se emite un electrón que es atraído por el ánodo, generando así una corriente eléctrica, cuya intensidad es proporcional a la intensidad de la radiación incidente y que debe ser posteriormente amplificada.

D.2. *Fototubo multiplicador*

El fototubo multiplicador tiene el mismo fundamento, pero entre el cátodo fotoemisor y el ánodo colector de los electrones emitidos existen varios electrodos adicionales, denominados dínodos, cada uno de ellos a un voltaje mayor que el anterior (figura 7.13.b). Cada dínodo provoca un efecto multiplicador sobre la señal generada ya que cada electrón que choca contra uno de ellos genera varios electrones, que a su vez son atraídos por el siguiente dínodo. Estos detectores son muy sensibles y de respuesta muy rápida. Como contrapartida son muy caros, necesitan una fuente de alto voltaje y presentan una emisión térmica que genera una corriente residual que se puede eliminar enfriando el detector a temperaturas suficientemente bajas.

D.3. *Detector de fotodiodos en serie*

Los detectores de fotodiodos están constituidos por materiales semiconductores; su funcionamiento se basa en el fenómeno de la fotoconducción: la radiación incidente provoca la promoción de electrones a estados energéticos en los que pueden conducir la electricidad.

El pequeño tamaño de los fotodiodos (15-50 μm) permite que estos detectores se fabriquen como conjuntos de 1000 o más unidades, ordenados linealmente en un circuito integral (figura 7.14.a y b), lo que los convierte en detectores multicanal: si la radiación es previamente dispersada por una red de difracción y orientada convenientemente, un detector de fotodiodos en serie puede medir simultáneamente un amplio intervalo de longitudes de onda. De esta forma puede registrar un espectro completo en milisegundos. La acumulación y promedio de varios espectros puede mejorar la relación señal/ruido.

Como desventaja cabe señalar que no presentan una sensibilidad tan alta como los fototubos multiplicadores.

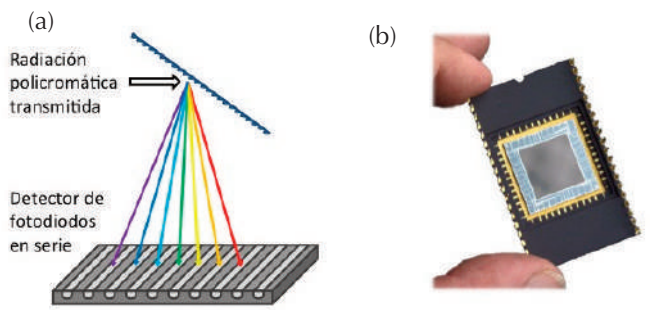


Figura 7.14
(a) Detector de fotodiodos en serie. (b) Detector de transferencia de carga

D.4. *Detector de transferencia de carga*

Al igual que el detector de fotodiodos, el detector de transferencia de carga es multicanal: puede medir simultáneamente varias longitudes de onda. En este caso los elementos individuales de medida se pueden acomodar en una matriz bidimensional. Presenta además alta sensibilidad, comparable a la de los fototubos multiplicadores, pero de mucho menor tamaño (figura 7.14.b).

E) Procesamiento y lectura de la señal

La señal generada por el detector debe ser acondicionada, lo que implica su amplificación y otras posibles operaciones como conversión, filtrado, derivación, integración y otros cálculos matemáticos. Los instrumentos modernos vienen equipados con el módulo electrónico capaz de realizar todas estas operaciones, además de la posibilidad de mostrar la información en pantalla y de almacenarla en dispositivos externos. Pero cada vez más los instrumentos están asociados a ordenadores con los que se lleva a cabo el control del equipo, el tratamiento, la presentación y el almacenamiento de los datos generados.

7.2.2. Tipos de instrumentos

Los elementos vistos hasta ahora se combinan para dar lugar a instrumentos con configuraciones diferentes, existiendo por tanto distintos términos para designarlos. En algunos casos hacen referencia a instrumentos ya obsoletos, pero permanecen en la terminología actual. En muchas ocasiones estos nombres se usan de manera indistinta para designar uno u otro tipo de instrumentos, no existiendo un acuerdo general. A continuación se definen ciertos términos que se refieren a instrumentos de espectroscopía, teniendo en cuenta las recomendaciones de la IUPAC:

- *Espectroscopio*: instrumento óptico para la evaluación visual de espectros en la región visible.
- *Espectrógrafo*: incorpora algún tipo de sensor para obtener la imagen del espectro, por ejemplo mediante una emulsión fotográfica o más modernamente con sensores que proporcionan una imagen digital.
- *Fotómetro*: aunque es un término desaconsejado por la IUPAC, se suele designar con él a los instrumentos sencillos, dotados de filtros para la selección de la longitud de onda y un fototubo como detector. Suelen ser robustos, económicos y de fácil manejo.

  Es una opción muy conveniente cuando se trata de instrumentos portátiles para medidas de campo, medida de la absorbancia en muestras que fluyen y como detectores en cromatografía líquida.

  Existen también fotómetros tipo sonda que utilizan fibra óptica para transmitir la luz hasta el extremo de un conducto flexible que se sumerge en la muestra; un espejo en el extremo de la sonda refleja la luz, que atraviesa la muestra con un paso óptico determinado, y la devuelve hasta el detector.

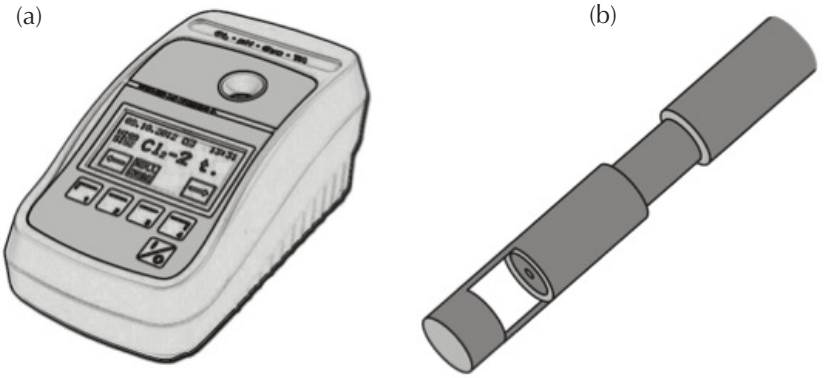


Figura 7.15
(a) Fotómetro portátil
(b) Sonda sumergible para la medida de la absorbancia

- *Colorímetro*: aunque tradicionalmente se ha designado así a instrumentos muy simples en los que el detector era el ojo humano, hace referencia en la práctica a un fotómetro de absorción que trabaja en la región visible del espectro.
- *Espectrómetro*: instrumento con uno o varios detectores que permiten la medida de la intensidad de la radiación electromagnética incidente, proporcionando así una medida cuantitativa. Según la IUPAC un *espectrómetro secuencial* mide la intensidad de varias bandas espectrales secuencialmente, mientras que un *espectrómetro simultáneo* proporciona al mismo tiempo la medida correspondiente a una región espectral (mediante el empleo, por ejemplo, de detectores de fotodiodos en serie).
- *Espectrofotómetro*: aunque tampoco se aconseja su uso por la IUPAC, se utiliza ampliamente para designar al instrumento más sofisticado que el *fotómetro*, dotado de monocromador para la selección de la longitud de onda, así como sistemas de detección de mayor sensibilidad. En la práctica esta denominación es la que se suele aplicar a los espectrómetros que trabajan en las regiones UV, visible e IR.

Los instrumentos de espectroscopía molecular UV-visible pueden adoptar, en general, cuatro configuraciones diferentes: (A) de haz sencillo, (B) de haz doble en el espacio, (C) de haz doble en el tiempo, y (D) multicanal.

A) Instrumentos de haz sencillo

En los instrumentos (fotómetros o espectrofotómetros) de haz sencillo, el camino óptico que recorre la radiación entre la fuente y el detector es único, por lo que se debe alternar la medida de la cubeta que contiene la muestra con la de la referencia, que se utiliza para fijar el cero de absorbancia a cada longitud de onda (figura 7.16).

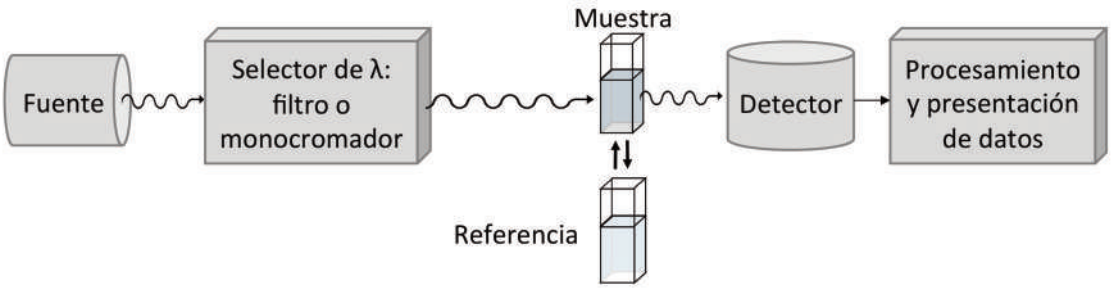


Figura 7.16
Instrumento de haz sencillo

B) Instrumentos de haz doble en el espacio

Los instrumentos con doble haz espacial cuentan con un divisor de haz, de forma que parte de la radiación pasa a través de la referencia, y simultáneamente otra parte a través de la muestra (figura 7.17). De esta forma se compensan las fluctuaciones de intensidad de la fuente, así como del detector y del sistema de amplificación de la señal.

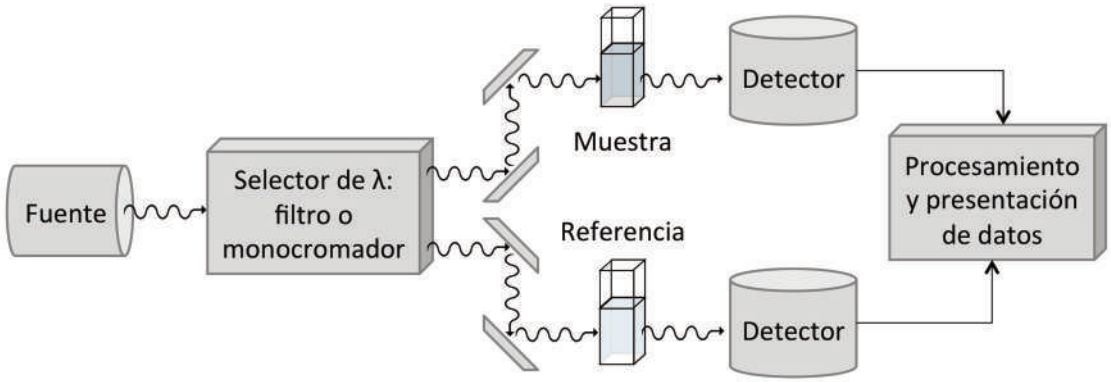


Figura 7.17
Instrumento de haz doble en el espacio

C) Instrumentos de haz doble en el tiempo

En los instrumentos de doble haz en el tiempo un espejo giratorio con sectores transparentes y reflectantes ("*chopper*") dirige el haz de radiación hacia la muestra o hacia la referencia de forma alternada; un sistema similar dirige al detector alternadamente los dos haces (figura 7.18).

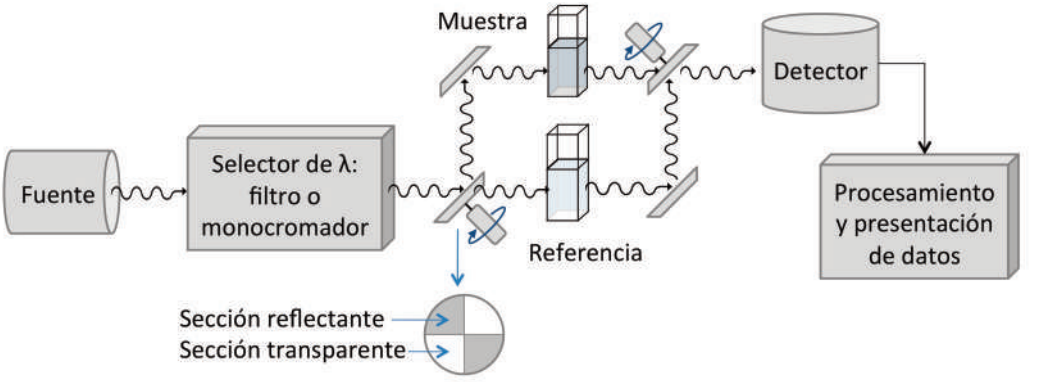


Figura 7.18
Instrumento de doble haz en el tiempo

D) Instrumentos multicanal

En los instrumentos multicanal no se selecciona una longitud de onda incidente: se irradia la muestra simultáneamente con una radiación policromática y tras la cubeta de la muestra (o de la referencia) se coloca un elemento dispersor con una red de difracción. Una vez la radiación transmitida ha sido dispersada por difracción se enfoca sobre un detector de fotodiodos en serie o de transferencia de carga, midiendo simultáneamente todas las longitudes de onda, con lo que es posible obtener un espectro completo en milisegundos (figura 7.19).

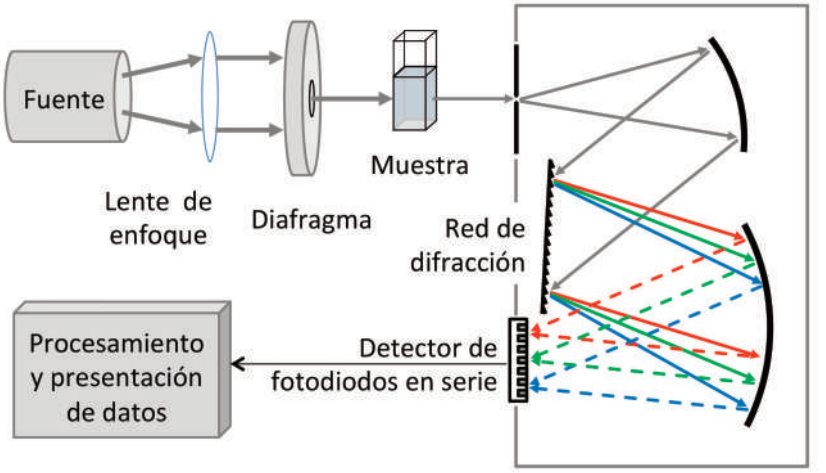


Figura 7.19
Esquema de espectrofotómetro multicanal

Este tipo de instrumentos suele responder a la configuración de un solo haz: se obtienen secuencialmente el espectro de referencia y el de la muestra, que se almacenan y procesan en un equipo informático asociado al instrumento.

La radiación UV y visible es suficientemente energética como para que pueda provocar la descomposición o la reacción química en el caso de compuestos fotolábiles o fotorreactivos. En el caso de los instrumentos dispersivos (fotómetros o espectrofotómetros) el filtro o el monocromador se sitúan antes de la muestra para minimizar así la irradiación de la misma. En el caso de los instrumentos multicanal, no dispersivos, un diafragma regula la intensidad de la radiación que incide sobre la muestra para evitar una irradiación excesiva. La mejora de la relación señal/ruido se puede conseguir promediando la señal de varias medidas.

7.3. Características analíticas y aplicaciones

La espectroscopía de absorción molecular UV-visible es posiblemente la técnica espectroscópica más empleada. Presenta un amplio campo de aplicación para la determinación cuantitativa de gran número de especies químicas. Esta técnica es aplicable fundamentalmente a muestras en disolución. También es posible su aplicación a muestras gaseosas, utilizando para ello celdas cilíndricas en las que el paso óptico es mucho mayor que en las cubetas para líquidos, e incluso a muestras sólidas (fibras, películas, sólidos pulverulentos o de superficie rugosa), mediante la técnica ya mencionada de la reflectancia difusa.

En principio, cualquier especie química que absorba radiación electromagnética en las regiones ultravioleta o visible es susceptible de poder ser determinada mediante esta técnica. Además, muchas especies no absorbentes, mediante un tratamiento químico adecuado, pueden transformarse en especies absorbentes. Se puede utilizar para la determinación directa de un gran número de especies orgánicas, inorgánicas y bioquímicas. El mayor campo de aplicación se encuentra en el análisis cuantitativo.

La selectividad de esta técnica es en general alta, basándose en la elección de una longitud de onda en la que únicamente absorba el analito, de forma que no interfieran otros componentes de la muestra, no siendo necesario en muchos casos realizar separaciones previas.

Esta técnica presenta en general una alta sensibilidad, que depende en última instancia de la capacidad de absorción del analito en cuestión. Muchas especies presentan alta absorbancia específica, con lo que pueden ser determinadas directamente. Cuando el analito no absorba a un nivel suficientemente alto se puede aumentar la sensibilidad sometiéndolo a una reacción concreta que origine un producto de alta absorbancia específica. Esta posibilidad es especialmente útil en el caso de iones metálicos, escasamente absorbentes, que pueden originar complejos fuertemente coloreados por adición de un ligando adecuado. Ejemplos de este tipo de determinaciones son los siguientes: Cu^{2+} con NH_3, Fe^{2+} con 1,10-fenantrolina, Fe^{3+} con SCN^-, etc.

Los límites de detección que presenta esta técnica son relativamente bajos (entre 10^{-4} y 10^{-5} M).

Además las medidas espectrofotométricas con los equipos actuales son rápidas y cómodas, prestándose muchos métodos a la automatización.

7.3.1. Análisis cualitativo

Los espectros de absorción ultravioleta y visible son, en general, menos útiles con fines cualitativos que los espectros de otras regiones, debido a que las bandas son más anchas y, por tanto, poco útiles en la identificación de moléculas.

La identificación de una sustancia requiere la comparación empírica de los detalles del espectro de la sustancia en cuestión con los del compuesto puro. Hay que considerar la existencia de máximos y mínimos, la relación de sus alturas, y las longitudes de onda a la que aparecen. También se puede utilizar la intensidad de la absorción, expresada en términos de la absortividad específica o molar.

Otra forma de identificación consiste en comparar los espectros de las dos sustancias en varios disolventes. Si experimentan las mismas variaciones al cambiar de disolvente, es una prueba de identidad. También el efecto de cambios de pH puede usarse como prueba de identificación.

PARA SABER MÁS

Identificación de grupos funcionales en compuestos orgánicos

Para compuestos orgánicos, el espectro de absorción en las regiones ultravioleta y visible puede ser de utilidad en la detección de ciertos grupos funcionales. Así, por ejemplo, la presencia de una banda débil entre 280 y 290 nm, que se desplaza hacia menores longitudes de onda al aumentar la polaridad del disolvente, indica la presencia de un grupo carbonilo. La presencia de una o más señales en la región 200-400 nm del espectro es una indicación clara de la presencia de insaturaciones en la molécula.

El siguiente cuadro muestra más ejemplos de grupos funcionales con sus características de absorción.

CUADRO 7.3
Ejemplos de características de absorción de algunos grupos cromóforos orgánicos

Cromóforo	Ejemplo	Disolvente	$\lambda_{máx}$ (nm)	$\varepsilon_{máx}$ ($M^{-1}\,cm^{-1}$)
Alqueno	$CH_3–(CH_2)_5–CH=CH_2$	n-heptano	177	13000
Alqueno conjugado	$CH_2=CH–CH=CH_2$	n-heptano	217	21000
Aromático	Benceno	n-hexano	204	7900
			256	200
Carbonilo	$CH_3–CO–CH_3$	n-hexano	186	1000
			280	16
Nitro	CH_3NO_2	isooctano	280	22

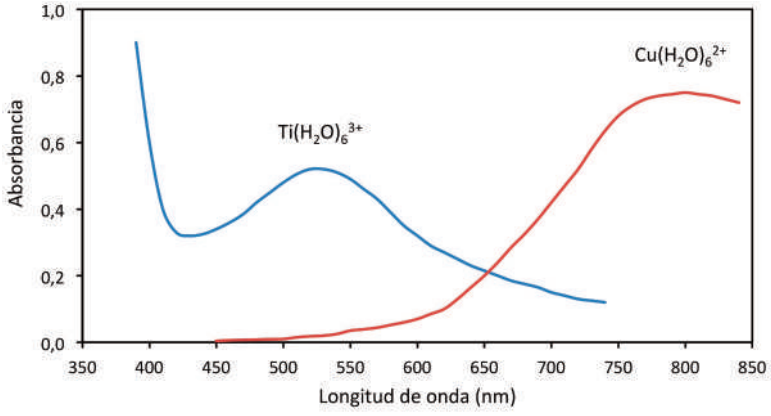


Figura 7.20
Esquema de absorción de los complejos hexaaquo de Ti^{3+} y Cu^{2+}

Con frecuencia se prepararan mezclas a partes iguales de la sustancia conocida y desconocida, y si el espectro que se obtiene coincide con el de las sustancias sin mezclar, aporta otra prueba de identidad.

De cualquier forma y para mayor seguridad, los datos que se obtienen de los espectros de absorción deben usarse siempre en combinación con los obtenidos a partir de espectros infrarrojos, de resonancia magnética nuclear o cualquier otra información analítica de que se disponga. En resumen, el espectro de absorción ultravioleta y visible no es una prueba infalible de la identidad de una especie química, pero sí representa una herramienta disponible, en combinación con otras.

7.3.2. Análisis cuantitativo

La base de la aplicación de los métodos espectrofotométricos al análisis cuantitativo es la ley de Lambert-Beer, que como se vio anteriormente indica que la absorbancia de una sustancia es directamente proporcional a su concentración.

Para realizar el análisis cuantitativo, deben seguirse una serie de etapas que de forma genérica se pueden resumir así:

1. Selección de la longitud de onda. En principio siempre se trabaja a la longitud de onda en la que la absorbancia de la sustancia analizada es máxima. Así se consigue máxima sensibilidad. Pero a veces en esta longitud de onda puede haber interferencias de otras sustancias absorbentes presentes en la muestra; en estos casos deberá elegirse otra longitud de onda.
2. Tras una preparación adecuada de la muestra si fuera necesario (eliminación de interferencias, desarrollo de color por adición de algún reactivo, etc.), se determina experimentalmente la relación absorbancia/concentración. Lo habitual para esta determinación es usar varias disoluciones patrón, preparadas en las mismas condiciones que la muestra, y medir su absorbancia, obteniendo una recta de calibrado. Si no fuera posible reproducir en los patrones las mismas condiciones de las muestras, se recurre al método de las adiciones estándar.

3. Por último, se mide la absorbancia de la muestra problema, y haciendo uso de la ecuación de la recta de calibrado, se determina la concentración de la especie absorbente.

Si en la disolución hay varias sustancias que absorben radiación, en muchas ocasiones podrá determinarse la concentración de la especie o especies de interés sin necesidad de separaciones previas, analizando los espectros de absorción de las sustancias presentes en la mezcla. La absorbancia es una magnitud aditiva, de forma que su valor será el resultado de la contribución de cada uno de los componentes de la muestra que absorba a una determinada longitud de onda. En estos casos será necesario realizar medidas a varias longitudes de onda (tantas como componentes se deseen determinar). Un ejemplo de esta situación se puede ver en la práctica 10, dedicada a la determinación de nitratos.

Al igual que se ha visto para algunas técnicas electroanalíticas, la espectroscopía de absorción molecular UV-visible también se puede aplicar a la determinación del punto final en valoraciones volumétricas. Para ello es necesario que uno o más de los reactivos o productos implicados en la reacción absorban radiación, o bien que la valoración se haga en presencia de un indicador que cambie su capacidad de absorber radiación en las inmediaciones del punto de equivalencia de la reacción.

7.4. Metodología

A) Selección de las cubetas apropiadas

Se debe tener en cuenta el estado físico de la muestra para elegir el tipo de cubeta. Además, la región del espectro en la que se vaya a trabajar (ultravioleta o visible) condiciona el material de las cubetas: cuarzo, vidrio o plástico. Las cubetas de plástico no son recomendables en análisis que exijan un alto grado de precisión por su baja calidad y no son compatibles con cualquier tipo de disolventes.

Otro aspecto que se debe tener en cuenta es la longitud de paso óptico: las cubetas estándar para muestras en disolución tienen un paso óptico de 10 mm pero es posible elegir cubetas con otra longitud distinta, en función de la concentración del analito de manera que se pueda trabajar con una sensibilidad adecuada; además es aconsejable que los valores de absorbancia se mantengan entre 0,1 y 0,8, intervalo en el que la exactitud de las medidas es máxima.

B) Selección del disolvente

Existen muchos disolventes adecuados para trabajar en la región UV-visible. Al elegir un disolvente, además de su idoneidad para disolver el analito, se debe tener en cuenta su transparencia (no deben absorber en la región de longitudes de onda en la que se lleve a cabo la determinación), y que no existan interacciones soluto-disolvente.

Los más usados son agua, etanol del 95%, ciclohexano y 1,4-dioxano. En el cuadro 7.4 se muestra el límite inferior del rango útil de longitudes de onda de los disolventes más habituales.

CUADRO 7.4
Algunos disolventes habituales en espectroscopía de absorción molecular UV-visible

Límite inferior	Disolventes
180-195 nm	Ácido sulfúrico (96%), agua, acetonitrilo
200-210 nm	Ciclopentano, n-Hexano, glicerol, metanol
210-220 nm	Alcohol n-butílico, isopropanol, ciclohexano, éter etílico
245-260 nm	Cloroformo, acetato de etilo
265–275 nm	Tetracloruro de carbono,ácido acético
280-290 nm	Benceno, tolueno, m-Xileno
Sobre 300 nm	Piridina, acetona

Hay que utilizar siempre que sea posible reactivos de alta calidad. Los diluyentes utilizados deberán estar libres de impurezas. En las medidas que requieran mucha exactitud que necesiten agua como disolvente, se recomienda usar de calidad UV o HPLC. Así se elimina la absorbancia no deseada de las impurezas del agua.

Cuando se utilicen disolventes volátiles como la acetona o el cloruro de metileno, hay que utilizar cubetas con tapa. La evaporación de un disolvente puede cambiar la concentración de la sustancia disuelta o provocar *ruido de disolución* debido a las corrientes de convección de la sustancia disuelta. En ambos casos se verá afectada la precisión de las medidas.

C) Tratamiento de la muestra

Las muestras que contienen dispersiones coloidales, polvo u otras partículas deben filtrarse, centrifugarse o sedimentarse, pues de lo contrario la atenuación de la transmisión debida a la dispersión o reflexión de la luz ocultará la información espectral del analito.

D) Realización de medidas

D.1. *Determinación de concentraciones de forma directa*

- Encender el aparato un tiempo antes de su uso para su estabilización. Según el aparato, este tiempo puede variar, pero en general las lámparas tardan entre 15 y 30 minutos en estabilizarse. Para medidas de alta precisión es mejor esperar más tiempo.
- Ajustar el cero de transmitancia. Los instrumentos más modernos realizan automáticamente este ajuste. En el caso de instrumentos que no cuenten con esta función, el ajuste manual se realiza cerrando el paso óptico con una tapa o con ayuda de una cubeta negra.

- Preparación de patrones. Deben realizarse con la máxima exactitud, utilizando material volumétrico de clase A. Debe cumplirse la ley de Lambert-Beer en todo el rango de concentraciones en el que se vaya a trabajar.
- Si el aparato dispone de *software*, hay que introducir los datos que se necesiten, tales como número de patrones, concentración de los mismos, etc.
- Elegir la longitud de onda de trabajo, en función de la especie que se pretende determinar. Esta longitud puede venir indicada en el protocolo de trabajo, o puede ser buscada en bases de datos, o elegirse experimentalmente tras hacer un barrido, es decir, una medida de la absorción de uno de los patrones (cualquiera), en todo el rango de longitudes de onda en la que se espere que absorba (rango del visible, rango de ultravioleta o ambos). El barrido aportará la longitud de onda de máxima absorción para la especie analizada, que en principio es la más adecuada para trabajar, si no hay interferencias.

  El barrido puede hacerse de forma manual o de forma automática. En el primer caso la operación se dilata bastante en el tiempo, porque cada vez que se cambia de longitud de onda, hay que hacer el cero, es decir, hay que indicar al aparato que la contribución a la absorción que pudiera hacer la cubeta, el disolvente y todo aquello que acompañe al analito, no lo considere, y cuando se obtenga el valor de absorción, sea debido únicamente al analito. Para hacer esto en la práctica, con un blanco (preparado de igual forma que los patrones pero sin analito) se ajusta a cero la absorbancia y, a continuación, se saca el blanco y se introduce el patrón, y se mide su absorbancia. Este proceso se repite cada vez que se cambie de longitud de onda.

  Los aparatos que hacen esta operación automáticamente, van variando la longitud de onda, midiendo alternativamente la señal del blanco y de la muestra, aportando ya el valor de absorbancia debido solo al analito, en todo el rango de longitudes de onda que se fije previamente.
- Una vez fijada la longitud de onda de trabajo, se mide la absorbancia de los patrones aplicando alguna de las metodologías de calibrado que se vieron en el capítulo 2. Normalmente la medición se realiza desde el patrón más diluido al más concentrado. Esto es obligatorio en el caso de aquellos aparatos que solo dispongan de una posición para la cubeta y se utilice siempre la misma para contener a los sucesivos patrones.
- En cualquier caso, siempre hay que enjuagar varias veces las cubetas con la disolución que va a contener, no llenarlas demasiado para que no se produzcan derramamientos, pero asegurándose que exista disolución en toda la trayectoria de la luz, y secar bien las paredes por fuera, con un papel suave y sin rayar. Las cubetas deben cogerse siempre por sus caras esmeriladas u opacas o, si son todas iguales, por las que no vayan a estar situadas en la trayectoria óptica, usando siempre la misma orientación de la celda cada vez que realice la medida. Por último, cabe apuntar que se ha de mantener perfectamente cerrada la tapa del portamuestras durante el proceso de medición, para asegurar una lectura adecuada.
- Tras la medida de los patrones, se mide igualmente la absorbancia de la muestra, salvo en la metodología de adición estándar en la que los patrones ya incluyen a la muestra.
- Una vez obtenidas las absorbancias, se determina la ecuación de la recta con las parejas de datos concentración de patrones/absorbancia a partir de la cual es posible determinar la concentración de analito en la muestra. Los instrumentos automatizados traen estas funciones ya incorporadas en su sistema de cálculo, lo que permite obtener el resultado final directamente.

PARA SABER MÁS

Sistema de succión ("Sipper")

Existen aparatos que disponen de un sistema de succión para llenar las cubetas, por medio de una bomba peristáltica. En este caso se usan cubetas denominadas de flujo.

El sistema de succión se controla a través del *software* del aparato, que permite introducir los parámetros que se deseen, como velocidad de flujo de la bomba.



Figura 7.21
Espectrofotómetro con sistema de succión

D.2. *Valoraciones fotométricas*

En esta técnica el recipiente donde se realiza la valoración se coloca directamente en el camino óptico del instrumento. Se determina la absorbancia de la muestra tras sucesivas adiciones del agente valorante, y se representa la absorbancia, a una longitud de onda adecuada, en función del volumen del valorante (figura 7.22).

Si la reacción es completa, la curva de valoración que se obtiene son dos rectas de diferente pendiente que se cortan en el punto final, similares a las que se obtienen en las valoraciones conductimétricas y amperométricas. Si la reacción no es completa, se observa una curvatura en las inmediaciones del punto final, pero igualmente se puede determinar este por extrapolación de los tramos rectilíneos hasta su punto de intersección. Hay que corregir la absorbancia frente a los cambios de volumen.

Esta técnica se suele aplicar mediante valoradores automáticos en los que el agente valorante se añade mediante buretas dotadas de un pistón accionado por un motor. La lectura de la absorbancia se realiza habitualmente mediante un detector tipo sonda.

Mediante esta metodología pueden determinarse especies no absorbentes, pues solo es necesario que una de las tres sustancias implicadas, agente valorante, sustancia a valorar o producto de la reacción, sea absorbente. Además la presencia de otras sustancias absorbentes diferentes al analito no constituye necesariamente una interferencia, pues solo es importante la variación de la absorbancia.

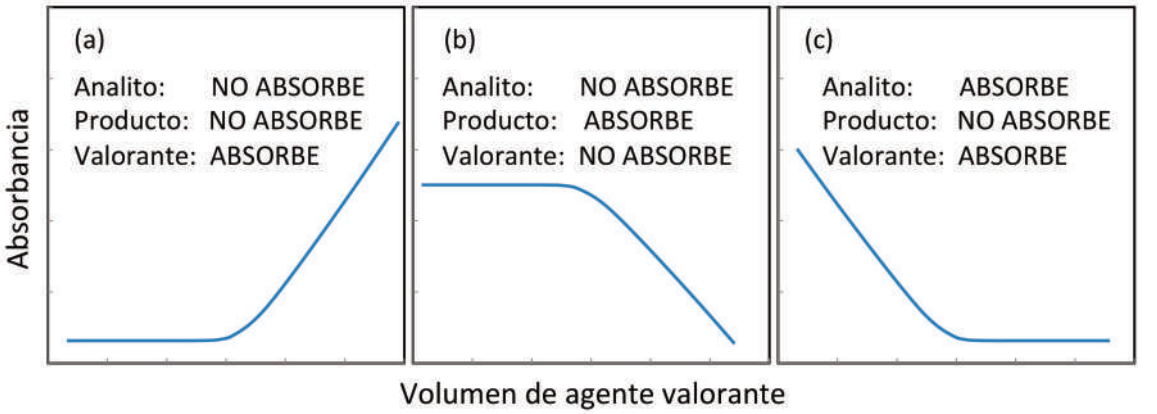


Figura 7.22
Algunos ejemplos de curvas de valoración fotométricas

E) Mantenimiento

E.1. *Espectrofotómetro*

Los espectrofotómetros, en general, son equipos muy especializados y costosos. Su conservación depende en gran medida de la forma de instalación y utilización. El ambiente que los rodea y la calidad del suministro de corriente eléctrica constituyen factores de primordial importancia para que los equipos puedan prestar los servicios de acuerdo con las especificaciones para los que fueron fabricados.

Las rutinas de mantenimiento que pueden llegar a requerir varían en complejidad, pudiendo ir desde la limpieza cuidadosa de sus componentes hasta procedimientos especializados, que solo deben realizar técnicos que hayan recibido la capacitación correspondiente y dispongan de la información técnica desarrollada por los fabricantes. El mantenimiento preventivo del espectrofotómetro debe responder a las rutinas y frecuencias recomendadas por el fabricante.

A continuación, se presentan unas rutinas básicas que pueden ser realizadas en el laboratorio:

1. Limpiar externamente el espectrofotómetro, incluyendo los controles y pantallas. Esto se puede realizar con una pieza de tela fina (similar a la textura de los pañuelos) humedecida con agua destilada o desionizada.
2. Inspeccionar y limpiar el cable de alimentación eléctrica.
3. Verificar que la lámpara esté limpia y en buen estado. Si no funciona, instalar una nueva, con las mismas especificaciones de la original. En los espectrofotómetros modernos, el estado de la lámpara es detectado automáticamente mediante el software que controla el estado y el funcionamiento del equipo, por lo que es fácil determinar en qué momento es necesario cambiar la lámpara. Efectuar el cambio de la lámpara y realizar el ajuste posterior siguiendo el procedimiento recomendado por el fabricante.
4. Revisar el fusible de protección. Antes de abrir el alojamiento del fusible, comprobar que el espectrofotómetro esté apagado y que sus contactos se encuentren limpios y en buen estado. Si es necesario reemplazarlo, colocar uno nuevo con las mismas características del recomendado por el fabricante.

E.2. *Cubetas*

La limpieza interna y externa de las cubetas es de suma importancia. Hay que asegurarse de que están perfectamente limpias, no rayadas y exentas de huellas o adherencias en las paredes por las que ha de pasar la radiación. La grasa de los dedos es muy absorbente en la región de los rayos UV y, si permanece en las superficies ópticas, puede provocar resultados erróneos.

En principio se lavan con suficiente agua destilada o desionizada. Si es necesaria una limpieza más profunda, puede usarse detergente o ácido nítrico en frío o caliente, pero no mezcla crómica. Tras ese lavado, se debe enjuagar repetidamente con agua, y por último con agua destilada o desionizada. No deben secarse interiormente, simplemente se dejan secar invertidas (sobre una pequeña pila de papel absorbente) o se utiliza aire a presión.

En el momento de su uso se enjuagan con agua destilada y a continuación con varias porciones de la disolución a medir. Una vez llenas con la disolución, se secan externamente con papel suave de alta calidad, y se comprueba que no contienen burbujas de aire.

Los pañuelos de papel para cristal y otros usos contienen a menudo detergentes o lubricantes que pueden afectar a las medidas. Si es posible, se debe evitar limpiar las caras de la celda entre las medidas en blanco y de la muestra.

Por último, se ha de apuntar que hay que desechar las cubetas que presenten rayaduras en la superficie pulida, así como evitar reutilizar las cubetas desechables.

Resumen

La espectroscopía de absorción molecular ultravioleta-visible se basa en la absorción de radiación electromagnética de estas regiones del espectro para promover transiciones entre el estado fundamental y estados excitados del nivel energético electrónico.

Los espectros de absorción, en los que se representa la absorbancia frente a la longitud de onda, presentan bandas anchas y en número escaso, por lo que aportan información cualitativa limitada para la identificación de la especie absorbente.

El análisis cuantitativo se basa en la ley de Lambert-Beer, que establece una proporcionalidad directa entre la absorbancia y la concentración de la especie absorbente para radiaciones monocromáticas.

En el capítulo se describen los diferentes módulos instrumentales (fuente de radiación, selector de longitud de onda, compartimento y recipientes para las muestras, detector y módulo de procesamiento y lectura de la señal) así como las configuraciones más habituales (instrumento de haz sencillo, de haz doble en el tiempo, de haz doble en el espacio y multicanal).

Se describe asimismo la metodología básica, desde la selección de las cubetas y el disolvente a la realización de análisis, tanto para la determinación de concentraciones de forma directa como mediante valoraciones fotométricas.

Práctica n.º 9

Determinación de fosfatos (PO_4^{3-}) en disolución

Objetivo

Aplicación de la espectroscopía de absorción molecular UV-visible para la determinación de PO_4^{3-} mediante calibración con patrones externos.

Fundamento

Este método se basa en la formación del ácido vanadomolibdofosfórico [$PO_4(NH_3)_3VONH_4$ $11MoO_3$], soluble en agua y que presenta una coloración amarilla, por lo que se puede determinar a partir de medidas de absorbancia en la región visible, concretamente a una longitud de onda de aproximadamente 420 nm. La relación absorbancia-concentración es lineal para este compuesto en disolución hasta un nivel de aproximadamente 50 mg/L de PO_4^{3-}.

Procedimiento

1. Preparación del reactivo formador de color (vanadomolibdato de amonio):
   - *a)* Disolver 40 g de heptamolibdato de amonio ($Mo_7O_{24}(NH_4)_6 \cdot 4H_2O$) en 400 mL de agua.
   - *b)* Preparar una segunda disolución con 1 g de metavanadato de amonio (NH_4VO_3) en 300 mL de agua y añadir 200 mL de ácido nítrico concentrado.
   - *c)* Añadir la disolución de metavanadato amónico sobre la de heptamolibdato de amonio y enrasar a un litro con agua destilada.
2. Disolución madre de PO_4^{3-} (1000 mg/L): pesar la cantidad necesaria de KH_2PO_4 (previamente desecado) en agua desionizada y enrasar a 100 mL.
3. Disolución intermedia de PO_4^{3-} (100 mg/L): tomar 10 mL de la disolución patrón y enrasar a 100 mL con agua destilada.
4. A partir de la disolución intermedia se preparan por dilución patrones de calibración: se pipetean alícuotas de la disolución intermedia de PO_4^{3-} de forma que la concentración final esté comprendida entre 0 y 50 mg/L; se agregan 10 mL del reactivo formador del color a cada una de ellas y se enrasan a 25 mL con agua destilada; agitar el matraz hasta homogeneizar la disolución y a continuación dejar en reposo 15 minutos, para que tenga lugar el desarrollo del color.
5. Obtención de la recta de calibrado: seleccionar en el monocromador una longitud de onda de 420 nm y fijar el "cero" de absorbancia con el patrón de 0 mg/L de PO_4^{3-}; medir la absorbancia de los patrones y representarla frente a la concentración (se debe incluir el valor del blanco o patrón de concentración 0 mg/L).
6. (La medida de la absorbancia se debe realizar a la longitud de onda de máxima absorbancia; para ello es aconsejable realizar previamente un espectro de absorción de uno de los patrones para asegurar que coincide con 420 nm).
7. Tomar un volumen de muestra que contenga aproximadamente 1 mg de PO_4^{3-} (si la muestra está muy concentrada será necesario realizar una dilución intermedia), introducir en un matraz aforado de 25 mL y tratar exactamente igual que los patrones (ver punto d). Es aconsejable preparar dos muestras de ensayo de disolución diferente.
8. A partir de la absorbancia medida a 420 nm se determina la concentración de PO_4^{3-} en la muestra utilizando la ecuación de la recta de calibrado.

Práctica n.° 10

Determinación de fosfatos en fertilizantes mediante calibración por adición estándar

Objetivo

Aplicación de la espectroscopía de absorción molecular UV-visible para la determinación de PO_4^{3-} mediante calibración por adición estándar.

Fundamento

Los abonos o fertilizantes inorgánicos están constituidos por diversas clases de fosfatos solubles; los más comunes derivan de los aniones metafosfato (PO_3^-), pirofosfato ($P_2O_7^{4-}$) y ortofosfato (PO_4^{3-}) y, dada su solubilidad, son arrastrados fácilmente por las aguas superficiales pudiendo generar problemas de eutrofización en el medio acuático.

En la determinación de fosfatos pueden interferir especies como Fe^{3+}, silicatos y arseniatos si están en alta concentración. Para minimizar las interferencias producidas por éstas y otras especies presentes en la muestra se aplicará el método de las adiciones estándar. En este método se preparan los patrones añadiendo cantidades conocidas y crecientes de analito sobre una determinada cantidad constante de muestra.

Se utilizará la misma reacción que en la práctica anterior para generar un producto coloreado a partir del PO_4^{3-} presente en la muestra. Teniendo en cuenta que la relación entre absorbancia y concentración es lineal hasta aproximadamente 50 mg/L es conveniente no sobrepasar este valor en los patrones entre la concentración de analito añadido y la proveniente de la muestra. Por este motivo es conveniente llevar a cabo un análisis previo de la muestra de fertilizantes mediante la metodología de calibrado con patrones externos (ver práctica anterior) de forma que se pueda conocer aproximadamente la concentración de PO_4^{3-} presentes.

Procedimiento

1. Reactivo formador de color: preparación descrita en práctica anterior.
2. Disolución madre e intermedia de PO_4^{3-}: descrita en la práctica anterior.
3. Preparación de la disolución de la muestra: pesar entre 0,10-0,15 g de muestra problema, disolver en agua desionizada con unas gotas de ácido nítrico y enrasar a 100 mL.
4. Preparación de los patrones:

   a) Añadir un volumen determinado de disolución de muestra a varios matraces aforados (no menos de cinco).

   b) Añadir a cada uno de los matraces volúmenes crecientes de disolución intermedia de PO_4^{3-} teniendo en cuenta que la concentración total no debe exceder de 50 mg/L.

   c) Agregar a cada matraz 10 mL del reactivo formador de color y enrasar; dejar reposar 15 minutos para que tenga lugar el desarrollo del color.

5. Medir la absorbancia de los patrones a 420 nm fijando previamente el cero con una disolución exenta de analito (patrón de concentración 0 mg/L de PO_4^{3-} preparado en la práctica anterior).
6. Representar la recta de calibrado y determinar la concentración de PO_4^{3-} en la muestra.

Ejercicios propuestos

1. Utiliza el simulador online de un espectrofotómetro que puedes encontrar en la siguiente dirección web:

   http://www.chm.davidson.edu/java/spec/spec.html

   para determinar la absortividad molar de dos compuestos desconocidos ("Unknow 1" y "Unknow 2"). Para ello se debe calcular la absorbancia de cada compuesto a varias concentraciones (se puede seleccionar mediante el control deslizante correspondiente).

   Las absorbancias se calculan a partir de la intensidad medida por el detector para cada muestra y concentración, y la intensidad incidente, que se mide al interponer un blanco en el camino óptico (seleccionar "Blank" en la pestaña desplegable bajo el epígrafe "Sample"). La absortividad molar de cada compuesto problema se determina a partir de la pendiente de la recta absorbancia-concentración.

2. Utiliza el simulador online de un espectrofotómetro que puedes encontrar en la siguiente dirección web:

   http://www.chm.davidson.edu/java/spec/spec.html

   para verificar el cumplimiento de la ley de Lambert-Beer.

   a) Selecciona "User Entered" en la pestaña desplegable bajo el epígrafe "Sample".

   b) Fijando un valor para la absortividad molar y la concentración, verificar la proporcionalidad directa entre absorbancia y paso óptico ("Cell Path Lenght"), cuyo valor se puede seleccionar mediante el control deslizante correspondiente.

   c) Fijando un valor para la concentración y el paso óptico, verificar la proporcionalidad directa entre absorbancia y absortividad molar (se puede modificar el valor de la absortividad molar introduciéndolo a mano en la casilla correspondiente).

3. Realiza los espectros de absorción de los compuestos $CoCl_4^{2-}$ y $Co(H_2O)_6^{2+}$ mediante el simulador *online* de un espectrofotómetro en la siguiente dirección web:

   http://www.liceoagb.es/quimiorg/spec203.html

   Sigue las instrucciones del simulador para medir la absorbancia de cada compuesto a diferentes longitudes de onda, teniendo en cuenta que se debe fijar el cero de absorbancia en cada longitud de onda con agua destilada antes de proceder a la medida de la absorbancia de las muestras.

   Se recomienda realizar un barrido de longitudes de onda en intervalos de 20 o 25 nm para agilizar el trabajo; posteriormente se puede realizar un barrido más "fino" alrededor de la banda de máxima absorbancia para fijar con exactitud la longitud de onda de máxima absorbancia.

4. El permanganato potásico ($KMnO_4$) en disolución acuosa tiene una absortividad molar de $1{,}8 \cdot 10^4$ $L \cdot cm^{-1} \cdot mol^{-1}$ a 520 nm. Calcula la concentración, en mg/L, que debe tener una disolución de $KMnO_4$ para no superar una absorbancia de 1 en una cubeta de 10 mm de paso óptico.

5. El cromo (VI) se puede determinar por espectroscopía de absorción molecular en la región visible mediante la formación de un complejo coloreado con difenilcarbacida, de estequiometría 1:1. Este complejo presenta una absortividad molar de 41700 $L \cdot cm^{-1} \cdot mol^{-1}$ a 540 nm. Se cuenta con cubetas de paso óptico 0,5, 1, 2, y 5 cm. ¿Qué cubeta se debería usar para el análisis de muestras que tienen una concentración aproximada de 250 µg/L de Cr?

6. Se pretende determinar la concentración de Mn en aleaciones mediante un método espectrofotométrico de absorción molecular. Para ello se prepara una curva de calibrado de la siguiente forma: se pesan 1,2890 g de $Mn(NO_3)_2$ (Pm = 178,94) y se disuelven en 1000 mL de agua destilada; de esta disolución se toman los siguientes volúmenes: 0, 5, 10, 20, y 25 mL en matraces aforados de 100 mL, a los que se añaden 10 mL de agente oxidante (reactivo formador de color) y finalmente se enrasa con agua destilada.

   a) Calcula la concentración de cada patrón en mg/L de Mn.

   b) Una muestra de 1,2610 g, de la que se estima que tiene alrededor de un 5% de Mn, se disuelve en 250 mL de agua destilada.

   Indica cómo se debería preparar una muestra de ensayo a partir de la disolución anterior, para que el valor de absorbancia que se obtenga esté dentro de los límites de la recta de calibrado.

   c) Otra muestra se ha preparado de la siguiente forma: se disuelven 0,5360 g de muestra en 250 mL de agua; de esta disolución se toman 20 mL a los que se añaden 10 mL de agente oxidante (formación de color) en un matraz aforado de 100 mL y se enrasa con agua destilada. La absorbancia de esta muestra de análisis es de 0,623. La recta de calibrado que se obtuvo a partir de los patrones anteriores es la siguiente: $y = 0{,}0483 \cdot x + 0{,}0002$.

   Calcula el contenido en Mn de la muestra.

7. Para determinar la concentración de nitritos (NO_2^-) por espectroscopía de absorción molecular en la región visible se prepararon varios patrones de los que se midió su absorbancia una vez sometidos a la reacción de formación de un compuesto coloreado, obteniéndose los siguientes datos:

$[NO_2^-]$ (mg/L)	0	10	20	30	40
Absorbancia	0,001	0,127	0,291	0,451	0,605

a) Representa gráficamente la recta de calibrado y determina la pendiente, la ordenada en el origen y el coeficiente de regresión.

b) De una muestra de agua residual se toman 10 mL que se llevan a un matraz aforado de 100 mL junto al reactivo formador de color. Se obtiene una absorbancia de 0,255. Calcula la concentración de NO_2^- en la muestra de agua residual.

c) Otra muestra de agua residual tiene una concentración de nitritos de aproximadamente 500 mg/L. Calcula el volumen máximo que se debe tomar para, una vez añadido el reactivo formador de color enrasar, a 100 mL y obtener una absorbancia dentro de los límites de la recta de calibrado.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. La radiación de la región ultravioleta del espectro electromagnético está involucrada en transiciones entre niveles energéticos:
   - ☐ *a)* Electrónicos.
   - ☐ *b)* Vibracionales.
   - ☐ *c)* Rotacionales

2. ¿Cuál de los siguientes factores puede provocar desviaciones de la ley de Lambert-Beer?:
   - ☐ *a)* Presencia de grupos auxocromos que originen desplazamientos batocrómicos.
   - ☐ *b)* Muy alta concentración de analito en disolución.
   - ☐ *c)* Utilización de radiación monocromática.

3. Los nitratos absorben a 220 nm. ¿De qué material deben ser las cubetas que se utilicen en la determinación de este analito?:
   - ☐ *a)* Plástico.
   - ☐ *b)* Vidrio.
   - ☐ *c)* Cuarzo.

4. La ley de Lambert-Beer presenta en ocasiones desviaciones aparentes debidas al sistema instrumental que se pueden minimizar mediante…
   - ☐ *a)* La utilización de cubetas emparejadas.
   - ☐ *b)* La utilización de fuentes de radiación de mayor intensidad.
   - ☐ *c)* La utilización de un detector de mayor sensibilidad.

5. ¿Qué fuente de radiación se utiliza habitualmente en espectroscopía de absorción molecular en la región ultravioleta?:

   ☐ *a)* Lámpara de wolframio.
   ☐ *b)* Lámpara de hidrógeno.
   ☐ *c)* Lámpara de arco de xenon.

6. Se pueden seleccionar cubetas de distinto paso óptico, siendo las más adecuadas aquellas en las que:

   ☐ *a)* Se consiguen valores de transmitancia cercanos al 100%.
   ☐ *b)* Los valores de absorbancia se mantienen entre 0,1 y 0,8.
   ☐ *c)* La absorbancia es la máxima posible.

SOLUCIONES:

1. **a** b c	**3.** a b **c**	**5.** a **b** c
2. a **b** c	**4.** **a** b c	**6.** a **b** c

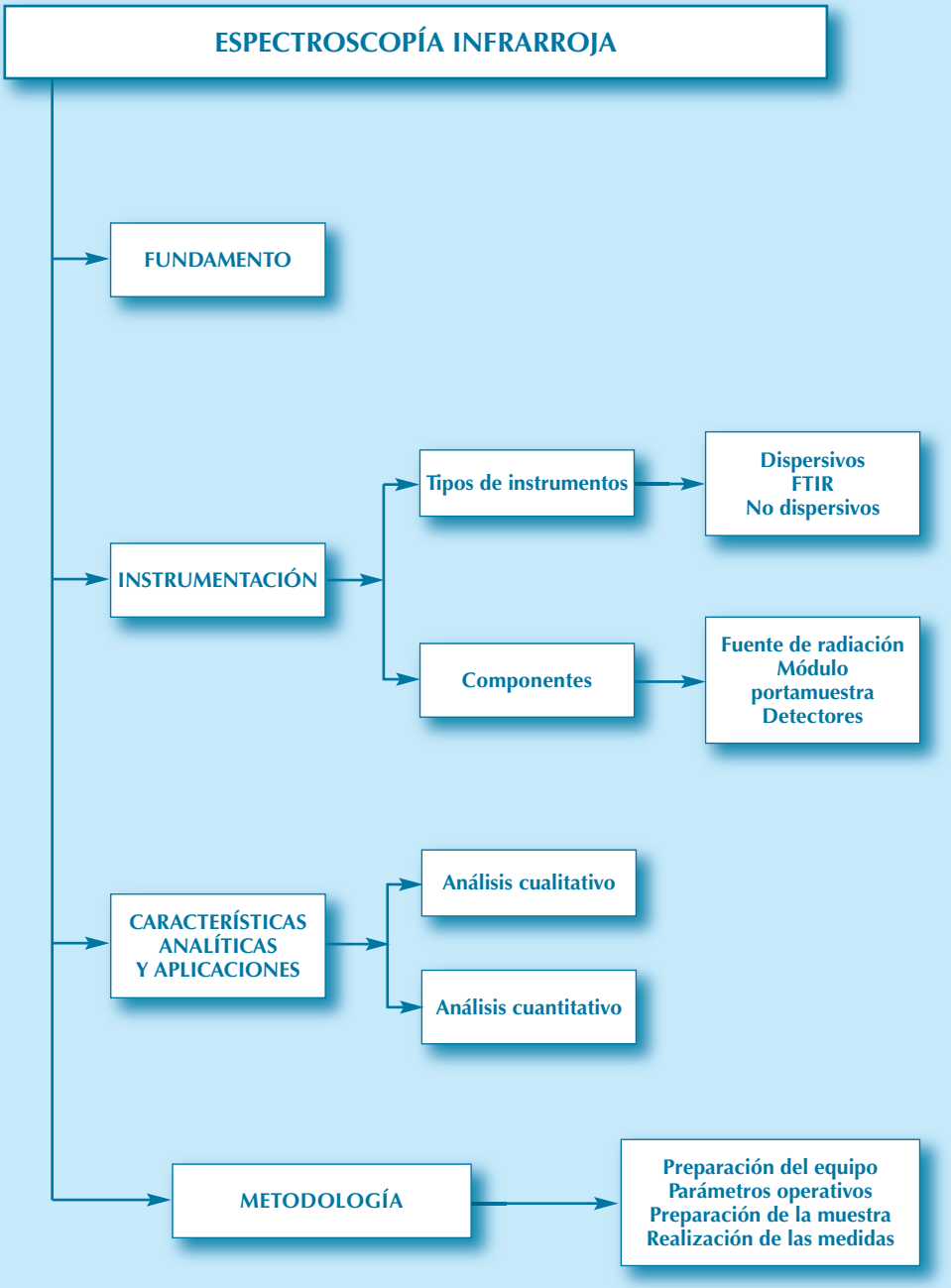
8

Espectroscopía infrarroja

Objetivos

1. Comprender los fundamentos básicos de la espectroscopía infrarroja y las características analíticas de la técnica.
2. Familiarizarse con los distintos módulos instrumentales que componen un espectrofotómetro, y su funcionamiento y manejo básico.
3. Aprender y practicar la metodología para la aplicación de la técnica al análisis de distintas muestras.

Mapa conceptual del capítulo



Glosario

Grupo funcional. Conjunto de átomos con una estructura y configuración definida.

Nicromo. Aleación de níquel y cromo muy resistente a la oxidación a altas temperaturas y con una alta resistividad eléctrica, lo que le permite calentarse intensamente cuando se le aplica una diferencia de potencial eléctrico.

Nujol. Material líquido de consistencia aceitosa, constituido por una parafina de alto peso molecular. Es químicamente inerte y presenta un espectro IR muy simple, por lo que se utiliza como agente dispersante para muestras sólidas en espectroscopía IR.

Número de onda. Magnitud característica de una onda que indica el número de vibraciones en una unidad de longitud; es la inversa de la longitud de onda y en espectroscopía IR se expresa en cm^{-1}.

Relación señal/ruido. Relación entre la intensidad de una señal analítica y la intensidad del ruido que acompaña a la misma; se representa como S/R o S/N (del inglés *signal/noise*).

8.1. Fundamento

La espectroscopía infrarroja (IR) se basa en la absorción por parte de la materia, de la radiación electromagnética de la región correspondiente a longitudes de onda de entre 780 nm (donde limita con la región visible) y 1 mm. Los fotones de la radiación IR son menos energéticos por tanto que los correspondientes a la región visible, y su absorción por parte de una especie química origina transiciones a estados vibracionales de mayor energía, dentro del estado electrónico en el que se encuentre dicha especie. Estos estados energéticos vibracionales engloban a su vez varios estados rotacionales, por lo que la absorción de IR origina bandas de cierta anchura (figura 8.1).

La absorción de radiación IR se ve condicionada por la existencia de enlaces químicos covalentes que puedan oscilar con respecto a una posición de equilibrio, es decir, únicamente absorberán radiación IR especies moleculares, con la excepción de moléculas diatómicas homonucleares (por ejemplo O_2, N_2, etc.). Cada grupo funcional absorberá a una o varias longitudes de onda características, correspondientes cada una de ellas a un modo de vibración diferente (figura 8.2).

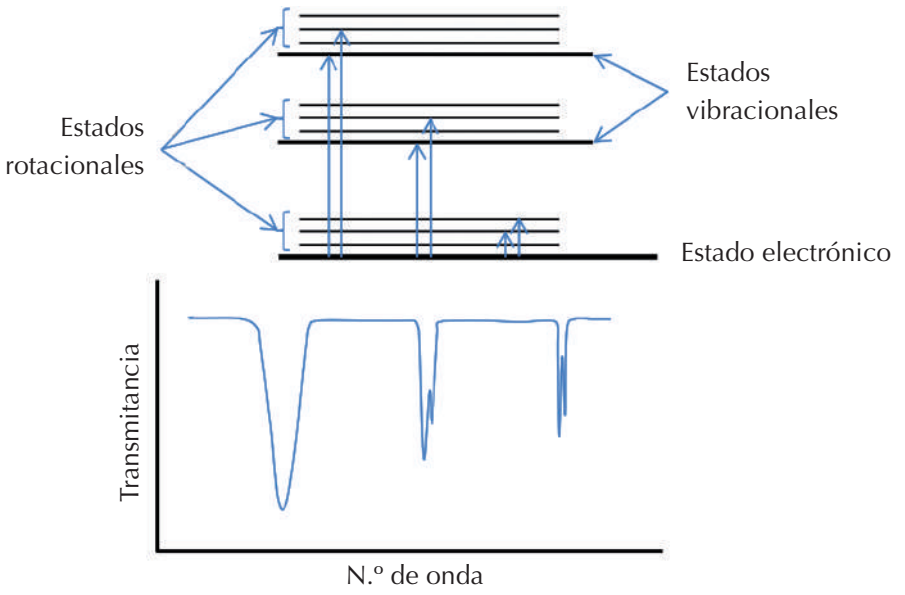


Figura 8.1
Transiciones vibracionales-rotacionales y espectro IR

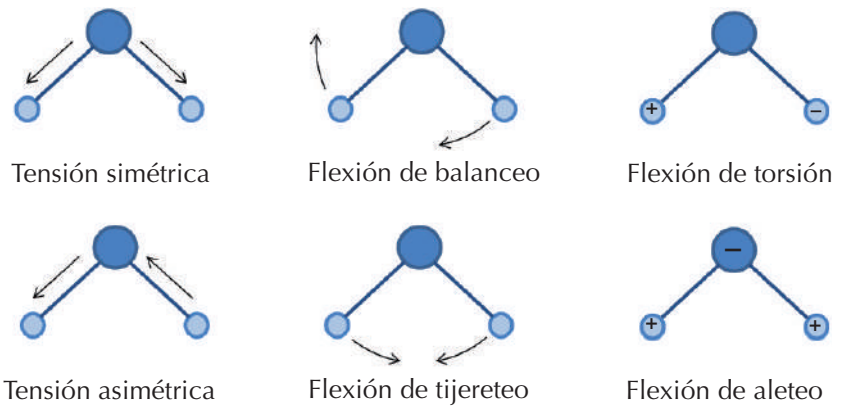


Figura 8.2
Modos de vibración molecular (+ y – representan movimiento desde el plano del dibujo hacia delante y hacia atrás, respectivamente)

Cada enlace absorberá a una frecuencia determinada, dando lugar a un espectro característico. Según la fortaleza de los enlaces y la masa de los átomos implicados será necesaria más o menos energía para que se produzca la absorción de la radiación. Por ello, el espectro IR se convierte en una característica específica del compuesto estudiado (figura 8.3).

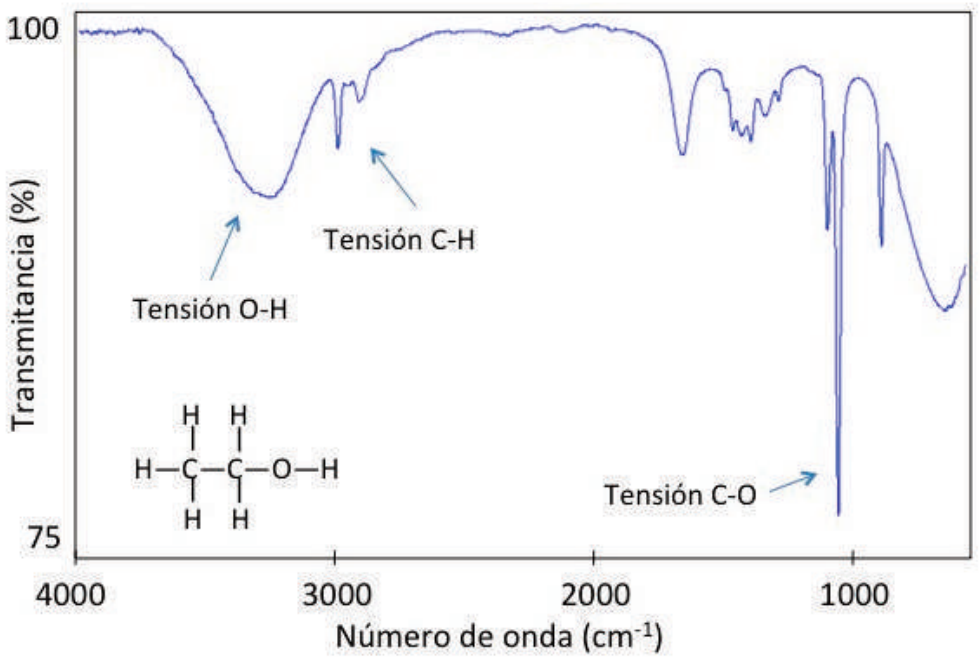


Figura 8.3
Ejemplo de espectro IR del etanol

Generalmente en un espectro infrarrojo se representa la transmitancia en lugar de la absorbancia en el eje de ordenadas, por lo que las bandas tienen sentido descendente, mientras que en el eje de abscisas aparece el número de onda. Cada molécula o grupo funcional puede mostrar varias bandas de absorción, con lo que un espectro puede aportar mucha información de tipo cualitativo y estructural. Sin embargo, esta técnica presenta limitaciones en cuanto a su aplicación al análisis cuantitativo.

El espectro IR se puede considerar dividido en tres regiones: IR cercano, medio y lejano, cada uno de los cuales se aplica a diferentes problemas analíticos. La instrumentación también se puede ver condicionada en cierta medida por la zona del espectro en la que se trabaje.

8.2. Instrumentación

Existen diferentes tipos de instrumentos de absorción IR, presentando cada uno de ellos una configuración distinta, lo que condiciona sus prestaciones y las aplicaciones a las que van dirigidos. Los componentes básicos que forman cada tipo de instrumento muestran en algunos casos notables diferencias.

8.2.1. Tipos de instrumentos

A) Instrumentos dispersivos

Estos instrumentos emplean monocromadores, generalmente redes de difracción (figura 7.10), para dispersar la radiación y medir así secuencialmente la absorbancia o transmitancia de cada longitud de onda.

A diferencia de los instrumentos de absorción que se emplean en UV-vis, en espectroscopía IR los monocromadores se sitúan tras la muestra para así evitar que llegue al detector la radiación IR que pueda emitir la muestra. Estos instrumentos suelen ser de haz doble para medir separadamente la radiación que atraviesa la muestra y la procedente de una celda de referencia (figura 8.4).

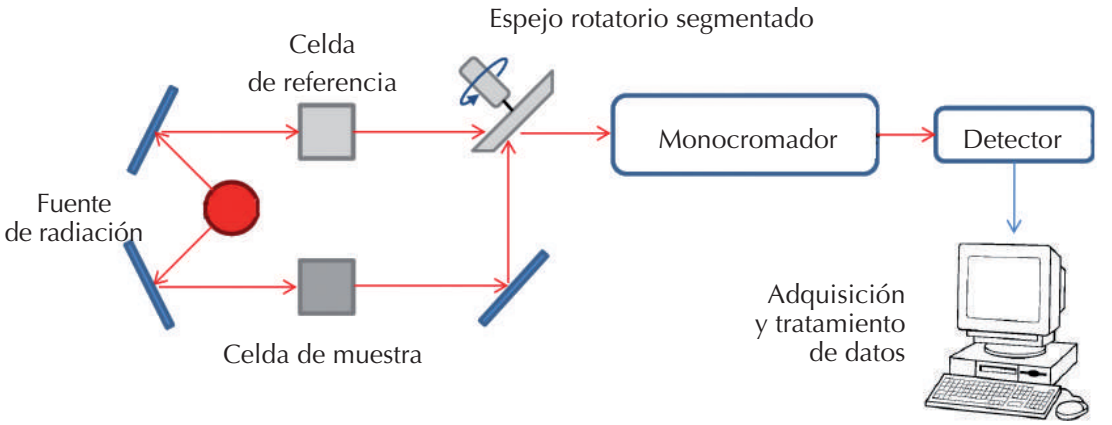


Figura 8.4
Esquema de un instrumento dispersivo de espectroscopía IR

Los detectores que se emplean en IR son menos sensibles que los empleados en UV-vis y presentan una relación señal/ruido más baja, por lo que para realizar un espectro con un mínimo aceptable de precisión es necesario realizar varios barridos y promediar los resultados obtenidos, ocasionando que los análisis sean lentos.

En la actualidad este tipo de instrumentos se aplican únicamente en el IR cercano, aunque prácticamente han sido sustituidos por los instrumentos no dispersivos basados en las transformadas de Fourier.

B) Instrumentos de transformadas de Fourier (FT)

La espectroscopía IR de transformadas de Fourier (FTIR) se aplica mediante instrumentos no dispersivos que detectan y miden todas las longitudes de onda simultáneamente. Para ello se

necesita un dispositivo modulador de la radiación, siendo el interferómetro de Michelson el más empleado para este fin.

El interferómetro de Michelson consta de un divisor de haz y dos espejos, fijo y móvil, de forma que la radiación que proviene de la fuente es dividida en dos haces de igual intensidad que tras reflejarse en cada uno de los espejos vuelven a coincidir, de forma que el haz recombinado presenta variaciones de intensidad en función del desplazamiento del espejo móvil, dando lugar a un interferograma. La radiación así modulada, una vez transmitida a través de la muestra y medida, puede ser decodificada mediante una conversión matemática denominada transformada de Fourier, para convertir el interferograma en un espectro idéntico al que se obtendría mediante un instrumento dispersivo. Esta técnica requiere de un ordenador para la adquisición y el tratamiento de los datos.

Los instrumentos FTIR pueden ser de haz simple o de doble haz, aunque dada su rapidez es habitual la configuración de haz simple (figura 8.5), de forma que se analiza separadamente la muestra y la referencia, cuya señal se resta a la de la muestra.

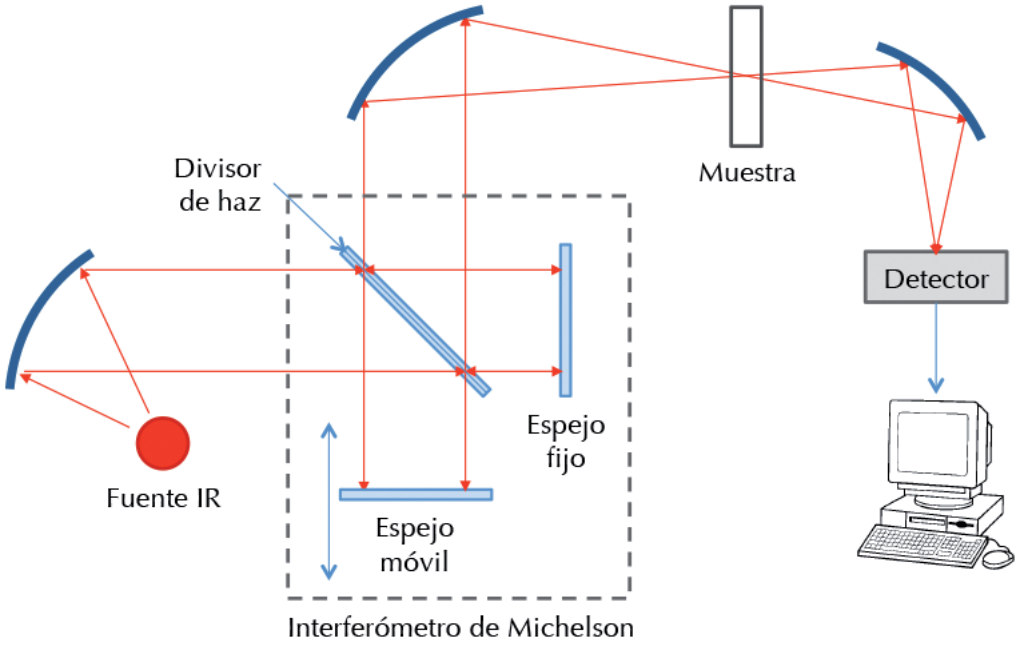


Figura 8.5
Esquema de un instrumento de espectroscopía FTIR

Los equipos FTIR son más rápidos, cómodos y precisos que los dispersivos; asimismo ofrecen mayor velocidad y sensibilidad, mayor relación señal/ruido y exactitud en la calibración de las longitudes de onda, un diseño mecánico sencillo y eliminan las interferencias debidas a la radiación dispersada, así como a la emitida por la muestra. La ausencia de monocromador ha abaratado los costes de los instrumentos FTIR haciéndolos ya prácticamente equivalentes a los instrumentos dispersivos.



Figura 8.6
Espectrofotómetro de FTIR

C) Instrumentos no dispersivos de filtro

Se trata de instrumentos sencillos y robustos que suelen emplear filtros para seleccionar la longitud de onda de interés. Pueden venir equipados con varios filtros para seleccionar diferentes longitudes de onda, o bien con filtros variables que permiten barrer longitudes de onda de forma continua en un determinado intervalo; existen incluso instrumentos sin ningún sistema de selección de longitud de onda.

Son instrumentos baratos, resistentes y fáciles de mantener que se diseñan en muchas ocasiones como equipos portátiles. Se aplican habitualmente al análisis cuantitativo de gases (figura 8.7).

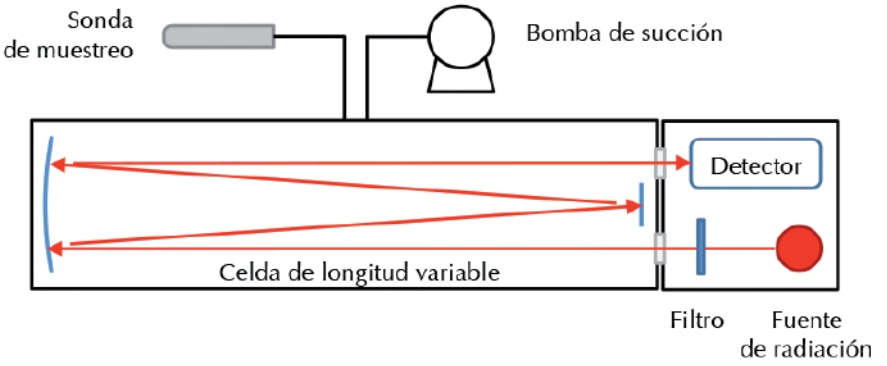


Figura 8.7
Esquema de un fotómetro IR portátil para análisis de gases

8.2.2. Componentes de los instrumentos

A continuación se describen aquellos componentes que forman parte de los diferentes tipos de instrumentos que se emplean en espectroscopía de absorción IR.

A) Fuente de radiación

En el IR cercano se utilizan lámparas de wolframio, ya descritas en el capítulo anterior, cuyo espectro de emisión abarca aproximadamente desde los 350 nm (UV próximo) hasta los 2200 nm. También pueden usarse LED (*Light Emiting Diodes* o diodos emisores de luz), muy eficaces y de pequeño tamaño, aunque solo pueden emitir hasta los 1600 nm aproximadamente. Una ventaja adicional de estas fuentes es que no requieren un sistema de selección de longitud de onda.

Para trabajar en la zona del IR medio se utilizan fuentes constituidas por sólidos inertes que emiten IR por calentamiento:

- *Emisor de Nerst:* cilindro constituido por una mezcla de óxidos de tierras raras que se calienta eléctricamente (1200-2200 K) produciendo una intensa emisión.
- *Globar:* varilla de Si_2C que se calienta eléctricamente (1300-1500 K). Esta fuente es menos intensa que la anterior, pero presenta mayor estabilidad.
- *Fuente de filamento incandescente:* constituido generalmente por un alambre de nicromo que se calienta y emite radiación IR cuando hay paso de corriente eléctrica a su través. Otra variante consiste en un filamento de Rh recubierto por un cilindro cerámico.

Para le región del IR lejano se utilizan lámparas de arco de Hg de alta presión, que proporcionan una emisión continua en esta región.

B) Módulos portamuestras

Esta técnica se presta al análisis de muestras tanto en estado gaseoso como líquido y sólido; existen diversos tipos de módulos portamuestras en función del estado y forma de la muestra, que se adaptan al compartimento del instrumento.

Para muestras gaseosas se utilizan celdas cilíndricas con ventanas de un material adecuado y válvulas que permiten hacer el vacío en su interior, así como para la introducción de la muestra (figura 8.8). Existen celdas de diferente paso óptico e incluso con espejos internos para que el haz de radiación incidente atraviese la muestra varias veces antes de salir de la celda.

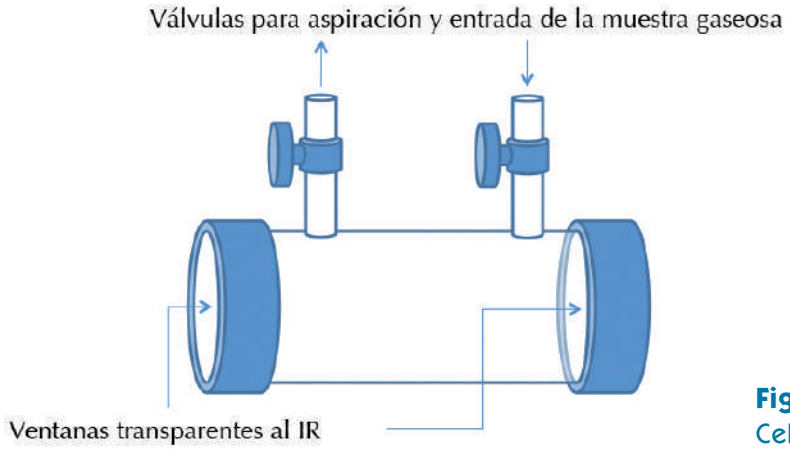


Figura 8.8
Celda para muestras gaseosas

En el caso de muestras líquidas, bien sean disoluciones o líquidos puros, se utilizan celdas desmontables constituidas por dos placas entre las que se fijan dos ventanas de un material adecuado (cuadro 8.1) con un separador entre ellas, de manera que se puede colocar una película de un espesor determinado (entre 0,01 y 1 mm) para conseguir diferentes longitudes de paso óptico (figura 8.9).

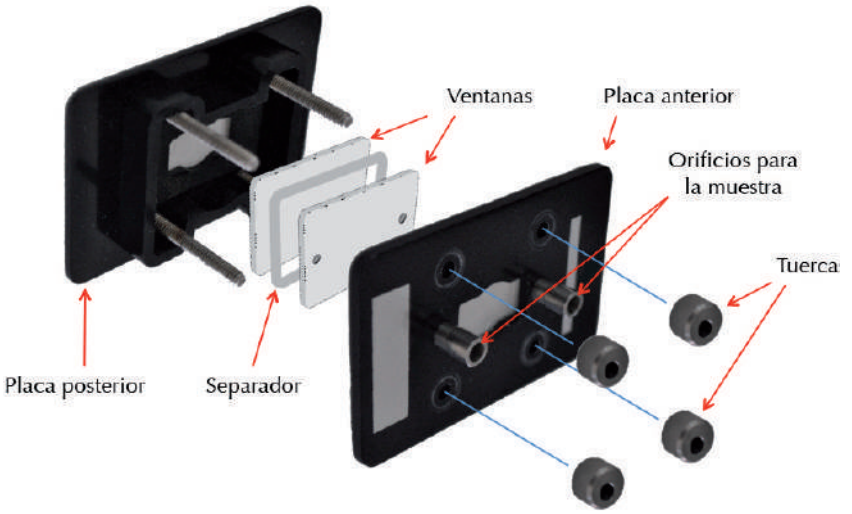


Figura 8.9
Celda desmontable para muestras líquidas

Existen también celdas de longitud de paso óptico fijo en las que las dos ventanas están unidas por un polímero adhesivo. La muestra se introduce mediante jeringas a través de orificios en una de las ventanas.

En el caso de muestras sólidas la primera opción sería la preparación de una disolución de una concentración adecuada; sin embargo, no siempre se encuentra un disolvente apropiado, por lo que es habitual que estas muestras se preparen como una mezcla con un agente dispersante sólido, transparente al IR (habitualmente KBr). Esta mezcla se prepara en forma de pastillas que se colocan en la trayectoria del haz incidente con un soporte adecuado.

Otra posibilidad es la suspensión o emulsión del sólido finamente dividido mezclándolo con un agente adecuado en fase líquida (nujol, hexaclorobutadieno, etc.). En este caso se utiliza un soporte parecido al descrito para el caso de muestras líquidas.

La muestra sólida finamente dividida también se puede analizar directamente mediante reflectancia difusa con ayuda del módulo portamuestras específico (figura 8.10).

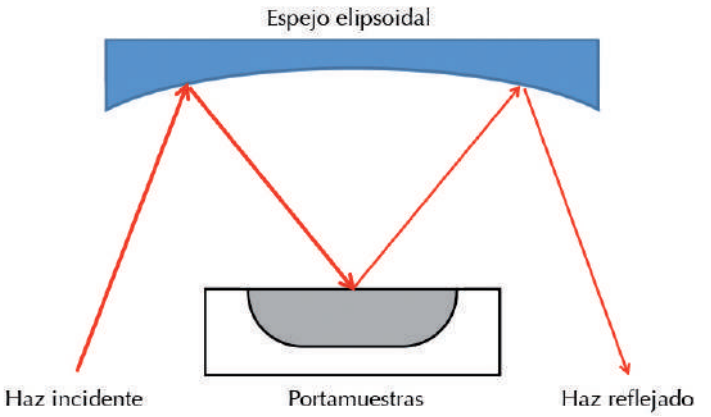


Figura 8.10
Esquema de un módulo portamuestras para reflectancia difusa

En el caso de sólidos más difíciles de tratar, como películas, fibras o pastas, se emplea la medida de la absorción mediante reflectancia atenuada total. En este caso la muestra se coloca sobre una o las dos caras de una lámina trapezoidal de un material cristalino transparente con un alto índice de refracción (cloruro de plata, haluros de talio, diamante, etc.). Ajustando el ángulo de incidencia de la radiación sobre el material transparente se consiguen reflexiones múltiples sobre la muestra, que absorberá así parte de la radiación incidente (figura 8.11).

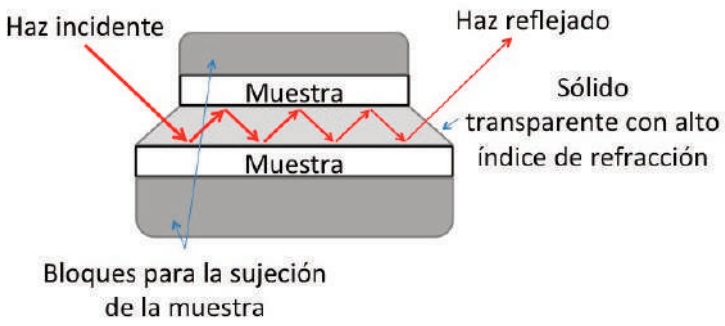


Figura 8.11
Esquema de accesorio para reflectancia atenuada total

Se pueden también analizar materiales poliméricos directamente en forma de película, siempre que tengan el grado adecuado de transparencia, colocándolos con un portamuestras adecuado en el paso óptico.

En todos los portamuestras mencionados el material que vaya a ser atravesado por la radiación IR debe ser transparente a dicha radiación en el intervalo de longitudes de onda de trabajo. Los materiales más empleados son haluros de metales alcalinos o alcalino-térreos. El cuadro 8.1 muestra algunos de los materiales más comunes empleados en las ventanas de los portamuestras en espectroscopía IR.

CUADRO 8.1
Algunos materiales empleados en las ventanas de portamuestras en espectroscopía IR

Material	Ventajas	Inconvenientes
Cloruro de sodio	– Económico	– Alta solubilidad en agua: absorción de humedad
Bromuro de potasio	– Intervalo de transmisión adecuado	– Se estropean con facilidad
Fluoruro de calcio Fluoruro de bario	– Aptos para muestras húmedas o acuosas	– No transmiten bien en toda la región del IR medio
Bromuro de plata	– Apto para muestras húmedas o acuosas – Transmite bien en el IR medio	– Caro – Fotosensible

C) Detectores

La radiación IR no es suficientemente energética como para producir la respuesta de detectores fotónicos como los empleados en espectroscopía UV-visible (fototubos multiplicadores o fotodiodos). En el caso de la espectroscopía IR es habitual la utilización de detectores térmicos y fotoconductores.

Los detectores térmicos responden a la radiación incidente mediante un aumento de temperatura que se convierte en una señal eléctrica. Estos detectores tienen peores características que los fotónicos: tiempo de respuesta lento y baja sensibilidad; presentan asimismo un elevado ruido de fondo debido a fluctuaciones térmicas. Algunos detectores térmicos son los siguientes: termopares, termopilas, constituidas por varios termopares en serie, bolómetros, constituidos por termorresistencias o elementos semiconductores (termistores); y transductores piroeléctricos. De estos últimos el más utilizado es el de sulfato de triglicina deuterado (DTGS); gracias a su rápido tiempo de respuesta es muy utilizado en los equipos IR de transformadas de Fourier.

Los detectores fotoconductores están basados en materiales semiconductores como sulfuro de plomo o telururo de cadmio-telururo de mercurio; en la zona de IR cercano más próximo al visible también se utilizan los semiconductores de silicio. Estos detectores presentan bajo nivel de ruido y tiempo de respuesta muy corto.

8.3. Características analíticas y aplicaciones

La espectroscopía IR se puede aplicar a muestras en estado sólido, líquido o gaseoso. Como ya se ha dicho, cualquier compuesto que presente enlaces covalentes absorbe radiación IR, a excepción de las moléculas diatómicas homonucleares, por lo que su campo de aplicación es muy amplio. Se trata de una técnica relativamente económica, rápida y de sencilla aplicación.

Entre sus limitaciones cabe destacar la dificultad que presenta el análisis de mezclas complejas, así como el de muestras constituidas por disoluciones acuosas o con un alto contenido de humedad, debido a que la molécula de agua absorbe radiación IR, con lo que presenta bandas que pueden interferir con las del analito.

En la actualidad existe la posibilidad de procesar los datos a nivel informático para poder medir muestras en disolución acuosa, filtrando la señal generada por la muestra para eliminar la contribución del agua presente.

Existe además una cierta dificultad en la preparación y manipulación de las muestras, sobre todo de líquidos y sólidos, debido a que no hay disolventes que sean transparentes en toda la región IR. El agua, como ya se ha dicho, presenta bandas de absorción muy intensas y además puede disolver a algunos de los materiales que habitualmente se emplean en las ventanas de las celdas portamuestras. Los alcoholes presentan problemas similares. Algunos de los disolventes más utilizados son, entre otros, ciclohexano, dioxano, disulfuro de carbono, tetracloruro de carbono y tetracloroetileno.

En caso de que la muestra sea un líquido sin diluir el paso óptico debe ser muy pequeño (una delgada película entre dos ventanas transparentes); la dificultad en controlar la longitud del paso óptico hace que no sea fácil obtener buenos resultados cuantitativos, aunque sí permite obtener espectros adecuados para el análisis cualitativo de la muestra.

Las aplicaciones de la espectroscopía IR se pueden clasificar en función de la región espectral que se emplee: IR cercano, medio o lejano. El cuadro 8.2 muestra las características y principales aplicaciones de cada uno de ellos. Las principales aplicaciones se centran en la región del IR medio y concretamente en las frecuencias correspondientes a la zona 4000-600 cm^{-1}.

CUADRO 8.2
Regiones del espectro IR y sus principales aplicaciones

Región	Longitud de onda N.º de onda	Aplicaciones principales
IR cercano	780 – 2 500 nm 12820 – 4000 cm^{-1}	Análisis cuantitativo de muestras gaseosas y materiales sólidos o líquidos.
IR medio	2,5 – 50 µm 4000 – 200 cm^{21}	Análisis cualitativo de gases, líquidos o sólidos puros. Análisis cuantitativo de mezclas (gases, líquidos o sólidos).
IR lejano	50 – 1000 µm 200 – 10 cm^{-1}	Análisis cualitativo de especies inorgánicas.

8.3.1. Análisis cualitativo

Las aplicaciones cualitativas de esta técnica se basan en la presencia, en la región del IR cercano, de un número variable de bandas de absorción en función de la estructura de la molécula que esté siendo estudiada. Con excepción de las moléculas diatómicas homonucleares (O_2, Cl_2, etc.), todas las moléculas orgánicas e inorgánicas absorben IR, dando lugar a espectros complejos. La comparación del espectro IR de dos muestras permite conocer si ambas tienen la misma composición. Por otra parte, el estudio del espectro de una sustancia pura permite obtener información sobre su estructura, facilitando así la identificación de la misma.

En los espectros IR se suele distinguir entre la región de frecuencias de grupo (4000-1250 cm^{-1} aproximadamente) y la región de "huella dactilar" o "vibraciones de esqueleto" (1200-600 cm^{-1} aproximadamente). La denominada región de frecuencias de grupo permite conocer los grupos funcionales que con mayor probabilidad están presentes (figura 8.12).

En la región de huella dactilar aparecen la mayor parte de los picos debidos a enlaces simples (C-C, C-H y otros); la distribución de los picos en esta región está relacionada con la estructura del "esqueleto" de la molécula. La comparación de los picos de esta región con los espectros almacenados en bases de datos informatizadas permite obtener información sobre la estructura de la molécula estudiada.

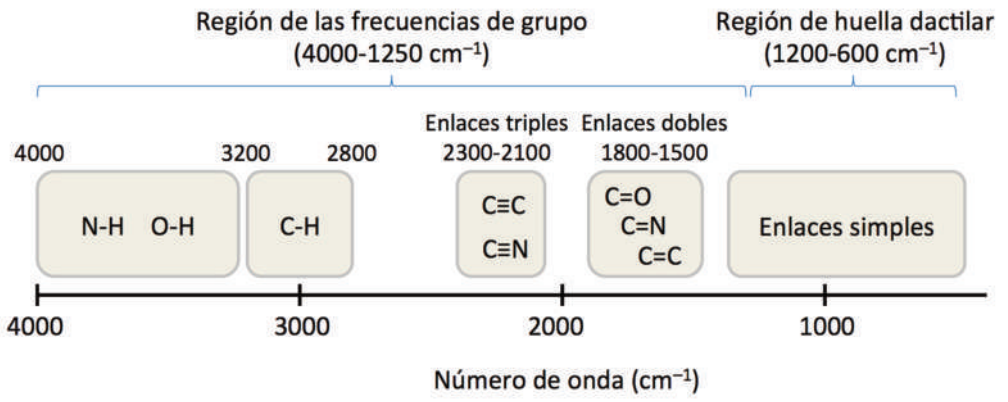


Figura 8.12
Regiones de las frecuencias de grupoy de huella dactilar en un espectro IR

PARA SABER MÁS

Aplicaciones cualitativas del IR en el ámbito industrial

La espectroscopía de IR para análisis cualitativo resulta de gran interés en ámbitos como la industria alimentaria y farmacéutica. Se aplica por ejemplo para la identificación de materias primas permitiendo la posibilidad de dar una conformidad rápida y acelerando así el inicio del proceso de producción. Las bibliotecas espectrales posibilitan incluso la discriminación entre distintos proveedores del mismo producto.

Un análisis rápido de un espectro de absorción de IR permite poner de manifiesto la presencia de impurezas o trazas de determinados compuestos tanto en las materias primas como en el producto final de un proceso productivo. Así, por ejemplo, en la industria alimentaria permite distinguir la presencia de grasas trans frente a las cis.

En la industria de los plásticos el análisis por IR permite identificar polímeros y aditivos, interacciones entre los distintos componentes, conformación, grado de cristalinidad, etc.

8.3.2. Análisis cuantitativo

Al igual que en la espectroscopía UV-visible, las aplicaciones cuantitativas de la espectroscopía IR se basan en la ley de Lambert-Beer. Sin embargo, la mayor estrechez de las bandas de absorción en IR, así como las limitaciones instrumentales, y la menor sensibilidad de los detectores que se emplean en esta técnica, condicionan la calidad de los resultados, originando mayores desviaciones de la ley de Lambert-Beer y una menor exactitud y precisión que en el caso de la espectroscopía UV-visible.

El análisis cuantitativo en la región del IR cercano requiere una instrumentación semejante a la que se emplea para la espectroscopía UV-visible, presentando a menudo exactitudes y precisiones semejantes a las de esta técnica.

Cuando las medidas se realizan en el IR medio, las limitaciones de la técnica y la dificultad en la preparación de las muestras dan lugar a resultados de menor calidad. Así, por ejemplo, las pequeñas longitudes de paso óptico en el caso de muestras líquidas originan un alto nivel de incertidumbre en los resultados analíticos obtenidos.

La estrechez de las bandas de absorción puede originar desviaciones de la ley de Lambert-Beer; este efecto se puede minimizar midiendo la absorbancia en el máximo de un determinado intervalo que incluya la banda de absorción en lugar de medir a una determinada longitud de onda fija.

Cuando la muestra está en forma de pastillas, éstas deben ser de grosor y peso uniforme; esta condición no es fácil de conseguir, por lo que es aconsejable la aplicación de la calibración con patrón interno para minimizar la influencia de este factor. El tiocianato de potasio (KSCN) cumple en muchas ocasiones las condiciones para poder ser empleado como patrón interno.

La espectroscopía IR se utiliza para análisis cuantitativo en varios ámbitos:

- Determinación de proteínas, humedad, almidón, aceites, lípidos y celulosa en productos agrícolas tales como granos y aceites de semillas.
- Análisis clínicos.
- Análisis de gases contaminantes en la atmósfera.
- Análisis de mezclas de hidrocarburos.

PARA SABER MÁS

Aplicaciones de la espectroscopía de IR cercano (NIRS)

La espectroscopía de absorción en la región del IR cercano presenta, a diferencia de la situación que se da en el IR medio, menos aptitud para el análisis cualitativo y en cambio resulta especialmente útil para el análisis cuantitativo, ofreciendo incluso una exactitud y precisión comparable a la espectroscopía de absorción UV-vis. Se trata además de una técnica no destructiva, rápida, robusta y que no precisa el empleo de reactivos químicos.

La espectroscopía NIR presenta un desarrollo creciente en los últimos años por su aplicación en la determinación de agua, proteínas y aminoácidos, grasas, y una gran variedad de especies químicas orgánicas como alcoholes, ácidos, ésteres, cetonas, etc. Estos análisis son de especial interés en ámbitos como la industria petroquímica, farmacéutica o agroalimentaria.

En este último ámbito se puede aplicar, por ejemplo, para la determinación de azúcares en fruta, miel, jugos, melazas, etc., sustituyendo a los métodos tradicionales (refractometría, polarimetría).

8.4. Metodología

A) Preparación del equipo

Es conveniente realizar los análisis habiendo eliminado previamente el agua y el dióxido de carbono que puedan estar presentes en la atmósfera interior del instrumento, y que originarían intensas bandas de absorción. Para ello es habitual contar con un sistema de purga que elimine estos compuestos mediante arrastre con una corriente de aire comprimido.

Otra operación previa habitual es comprobar y corregir la alineación del portamuestras con la fuente y el detector. Esto se consigue accionando un tornillo que modifica la alineación hasta conseguir que la señal que genera el detector sea máxima. En los equipos más modernos esta operación se puede realizar automáticamente.

También debe realizarse periódicamente una comprobación del estado de la calibración instrumental de un espectrofotómetro IR, es decir, de la intensidad de la señal (absorbancia o transmitancia) y posición de la misma (longitud de onda o número de onda de máxima absorbancia o mínima transmitancia). Esto se realiza registrando el espectro de un material de referencia, habitualmente una película de poliestireno de un grosor determinado. Este material presenta un conjunto de bandas de absorción agudas e intensas, con unos valores tabulados que se comparan con los obtenidos para asegurar la correcta calibración del instrumento.

B) Establecimiento de los parámetros operativos del instrumento

Es necesario establecer correctamente el valor de varios parámetros operativos para conseguir un resultado óptimo:

- *Número de barridos:* aumenta la relación señal/ruido y la sensibilidad.
- *Velocidad de barrido:* cuanto mayor sea más rápido será el análisis, pero puede hacer perder resolución y disminuir la relación señal/ruido.
- *Apertura:* es el diámetro de un diafragma variable, con lo que se controla el tamaño del haz y por tanto la cantidad de radiación incidente; una mayor apertura da lugar a una mayor relación señal/ruido; una menor apertura mejora la resolución y evita la saturación del detector.
- *Ganancia:* es el factor por el que se amplifica la señal que produce el detector; conviene aumentarla en el caso de la que la señal sea débil.

C) Preparación de la muestra

Es quizás la etapa más compleja y larga, y de la que en mayor medida depende la calidad de los resultados obtenidos.

Las muestras gaseosas se adaptan fácilmente al análisis con esta técnica. Existen celdas de distinto paso óptico en función de la presión del gas que se desee analizar, o de la proporción en

la que se encuentre el analito. Es conveniente eliminar el aire presente en la celda mediante la aplicación de vacío antes de proceder a introducir el gas.

Las muestras líquidas se pueden analizar directamente (sin diluir) o bien mezclándolas con un disolvente adecuado. En el caso de muestras volátiles son más adecuadas las celdas de paso óptico fijo (no desmontables), mientras que en el caso de muestras viscosas es preferible utilizar celdas desmontables.

Las muestras sólidas son las más difíciles de preparar. Generalmente deben molerse para conseguir tamaños de partícula menores que la longitud de onda de la radiación incidente y evitar así la dispersión de la radiación. Una vez que la muestra ha sido finamente molida es posible la preparación de la misma en forma de pastillas: se mezcla con un haluro alcalino, habitualmente bromuro de potasio en polvo, en una proporción de entre el 0,1 y el 3% de muestra, y se prensa en un troquel especial y con ayuda de una prensa hidráulica hasta producir un disco transparente (figura 8.13).



Figura 8.13
Troquel y prensa hidráulica empleada para la preparación de pastillas de muestras sólidas

Las características de la pastilla determinan la calidad del espectro que se obtenga. Algunas de las variables a las que se debe prestar especial atención son las siguientes:

- El tamaño de partícula debe ser suficientemente fino para no producir dispersión de la radiación.
- Presencia de agua: tanto la muestra como el KBr debe estar exento de humedad.
- Relación muestra/KBr: no debe ser muy alta.
- Grosor de la pastilla: no debe ser demasiado gruesa.
- Presión aplicada: debe ser suficientemente alta como para que la pastilla tenga la consistencia adecuada y no resulte frágil.
- La muestra no debe tener un punto de ebullición demasiado bajo.
- Una alternativa a esta forma de preparación es la preparación de una suspensión a partir de la muestra sólida finamente dividida. Como fase dispersante se utiliza un agente emul-

sionante como el aceite de parafina (nujol). La muestra se prepara mezclando unos miligramos de muestra (2-5 mg) con 1-2 gotas de nujol. Se utiliza una celda similar a la descrita para muestras líquidas.

D) Realización de medidas

En los equipos FTIR de haz simple (quizás los equipos más habituales en la actualidad) es necesario realizar y registrar un espectro con el compartimento de la muestra vacío. Este espectro de fondo recoge la influencia del agua y del dióxido de carbono que puedan quedar en el sistema después de la purga, así como la de cualquier sustancia interferente que pudiera estar presente.

Este espectro de fondo se resta automáticamente del espectro de la muestra gracias al módulo informatizado de tratamiento de datos. El espectro de la muestra se debe registrar en las mismas condiciones en las que se realiza el espectro de fondo.

Actualmente los equipos FTIR cuentan con un ordenador que permite el control del instrumento además de realizar la adquisición, el almacenamiento, el tratamiento y la presentación de datos. El mismo ordenador facilita mediante un *software* adecuado la realización de análisis cualitativo y cuantitativo.

Resumen

La espectroscopía IR se basa en la absorción de radiación electromagnética por parte de especies que presenten enlaces químicos covalentes (a excepción de las moléculas diatómicas homonucleares) para promover transiciones entre el estado fundamental y estados excitados del nivel energético vibracional.

Los espectros de absorción, en los que es habitual representar la transmitancia frente al número de onda, presentan bandas relativamente estrechas, características de los grupos funcionales presentes, así como de la estructura del esqueleto de la molécula, por lo que aportan una valiosa información cualitativa para la identificación de la especie absorbente.

El análisis cuantitativo se basa en la ley de Lambert-Beer, que establece una proporcionalidad directa entre la absorbancia y la concentración de la especie absorbente para radiaciones monocromáticas.

En el capítulo se describen los diferentes tipos de instrumentos IR, con especial atención a los instrumentos de transformadas de Fourier (FTIR), que ofrecen mejores prestaciones que los instrumentos dispersivos, a los que han ido desplazando progresivamente. Se describen asimismo los componentes del equipo característicos de esta técnica: fuentes de radiación, portamuestras y detectores.

El último apartado del capítulo describe la metodología que se emplea para la preparación de las muestras y la realización de espectros.

Práctica n.° 11

Análisis cualitativo de muestras sólidas y líquidas por espectroscopía IR

Objetivos

- Practicar el manejo del espectrofotómetro de IR.
- Preparar muestras, tanto líquidas como sólidas, para espectroscopía IR.
- Obtener los espectros de las muestras preparadas identificando las bandas de absorción de los grupos funcionales más característicos.

Procedimiento

1. Encender el espectrofotómetro. Comprobar la alineación de la fuente con el portamuestras y el detector. Verificar que el espectrofotómetro está calibrado con ayuda de una lámina de referencia de poliestireno.
2. Preparación de las muestras.

   Se prepararán y analizarán dos muestras distintas, una líquida y otra sólida. En ambos casos se pueden analizar compuestos orgánicos. Como muestra líquida se puede usar acetona, etanol, nitrobenceno, etc. Entre los compuestos sólidos que se pueden usar como muestras están el ácido acetilsalicílico, el ácido succínico, el ácido benzoico, etc.

   - Muestra líquida: con ayuda de una micropipeta, colocar una gota de la muestra sobre una ventana de bromuro de potasio o cloruro de sodio, colocar sobre ésta la segunda ventana, fijar el conjunto entre las placas portamuestras y apretar las tuercas con cuidado, primero una pareja situada diagonalmente y luego la otra, para evitar la rotura de las ventanas.
   - Muestra sólida: se debe preparar una mezcla de la muestra, aproximadamente al 2%, con KBr. Ambas sustancias deben ser desecadas previamente en estufa. La mezcla se muele en un mortero de ágata hasta que quede finamente pulverizada (moler al menos durante 5 minutos). Unos 300 mg de la mezcla se colocan entre las superficies pulidas de los discos del troquel o molde, siguiendo el esquema de la figura 8.14.

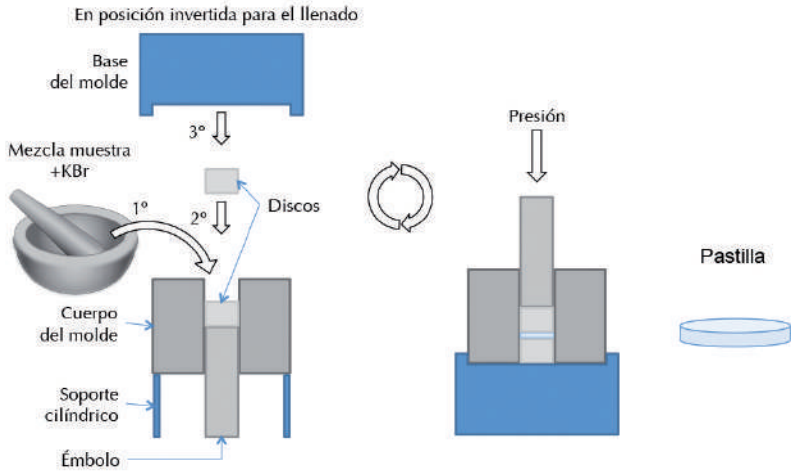


Figura 8.14
Esquema de la preparación de una pastilla de muestra

[.../...]

Procedimiento

El troquel se lleva a la prensa donde se le aplica una presión correspondiente a 10 toneladas durante 3 minutos, vigilando que no baje la presión. La pastilla tiene que presentar superficies lisas y ser transparente, y se debe manipular con pinzas. Se obtienen mejores resultados si se aplica vacío durante el prensado para eliminar el aire.

Tanto las ventanas como las piezas del troquel deben estar limpias y secas para evitar la presencia de interferencias (humedad, rastros dejados por el contacto directo con las manos, etc.). Para la limpieza se utiliza cloroformo o algún otro disolvente exento de agua.

3. Realización del espectro de fondo.

   Se deben seguir las instrucciones del espectrofotómetro para registrar un espectro que recoja la señal del fondo que pueda venir originada por el H_2O y el CO_2. Este espectro se resta automáticamente del correspondiente a la muestra.

4. Realización del espectro de la muestra.

   Una vez registrado el espectro de cada muestra se deben identificar los principales picos, asignándolos a los grupos funcionales de las muestras analizadas.



Ejercicios propuestos

1. Busca información sobre métodos normalizados de análisis en los que se aplique la espectroscopía IR.
2. Realiza una tabla en la que aparezcan las bandas de absorción de los siguientes grupos funcionales o tipos de compuestos: grupo carbonílico (en aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos y ésteres), alcoholes, aminas y alquenos.
3. Se quiere llevar a cabo la deshidratación de 1-metilciclohexanol a 1-metilciclohexeno en el laboratorio. Diseña la metodología para ir controlando la reacción por espectroscopía de IR, y determinar cuándo la reacción ha transcurrido de forma cuantitativa.
4. Realiza una búsqueda de librerías espectrales disponibles en la Red. Realiza un cuadro con las mismas, indicando dirección electrónica, utilidad, número de espectros, precio, etc.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. La radiación de la región infrarrojo del espectro electromagnético está involucrada en transiciones entre niveles energéticos:
   - ☐ *a)* Nucleares.
   - ☐ *b)* Electrónicos.
   - ☐ *c)* Vibracionales.
2. La espectroscopía IR es aplicable al estudio de especies químicas…:
   - ☐ *a)* Atómicas.
   - ☐ *b)* Moleculares.
   - ☐ *c)* Iónicas.
3. ¿Cuál es el módulo instrumental característico de los equipos de espectroscopía IR de transformadas de Fourier (FTIR)?
   - ☐ *a)* Interferómetro.
   - ☐ *b)* Accesorio para reflectancia difusa.
   - ☐ *c)* Filtros de interferencia.
4. ¿Cuál de las siguientes fuentes de radiación serían adecuadas para trabajar en el IR medio?
   - ☐ *a)* Lámpara de wolframio.
   - ☐ *b)* Lámpara de arco de mercurio de alta presión.
   - ☐ *c)* Emisor de Nerst.
5. ¿De qué material deberían ser las ventanas para analizar por espectroscopía IR una muestra líquida con un cierto contenido de agua?
   - ☐ *a)* Cloruro de sodio.
   - ☐ *b)* Bromuro de potasio.
   - ☐ *c)* Fluoruro de calcio.
6. ¿Qué sistema portamuestras es más adecuado para el análisis de una muestra líquida volátil?
   - ☐ *a)* Celda de paso óptico fijo.
   - ☐ *b)* Celda desmontable.
   - ☐ *c)* Accesorio para reflectancia atenuada total.

SOLUCIONES:

1. a b **c**	**3.** **a** b c	**5.** a b **c**
2. a **b** c	**4.** a b **c**	**6.** **a** b c

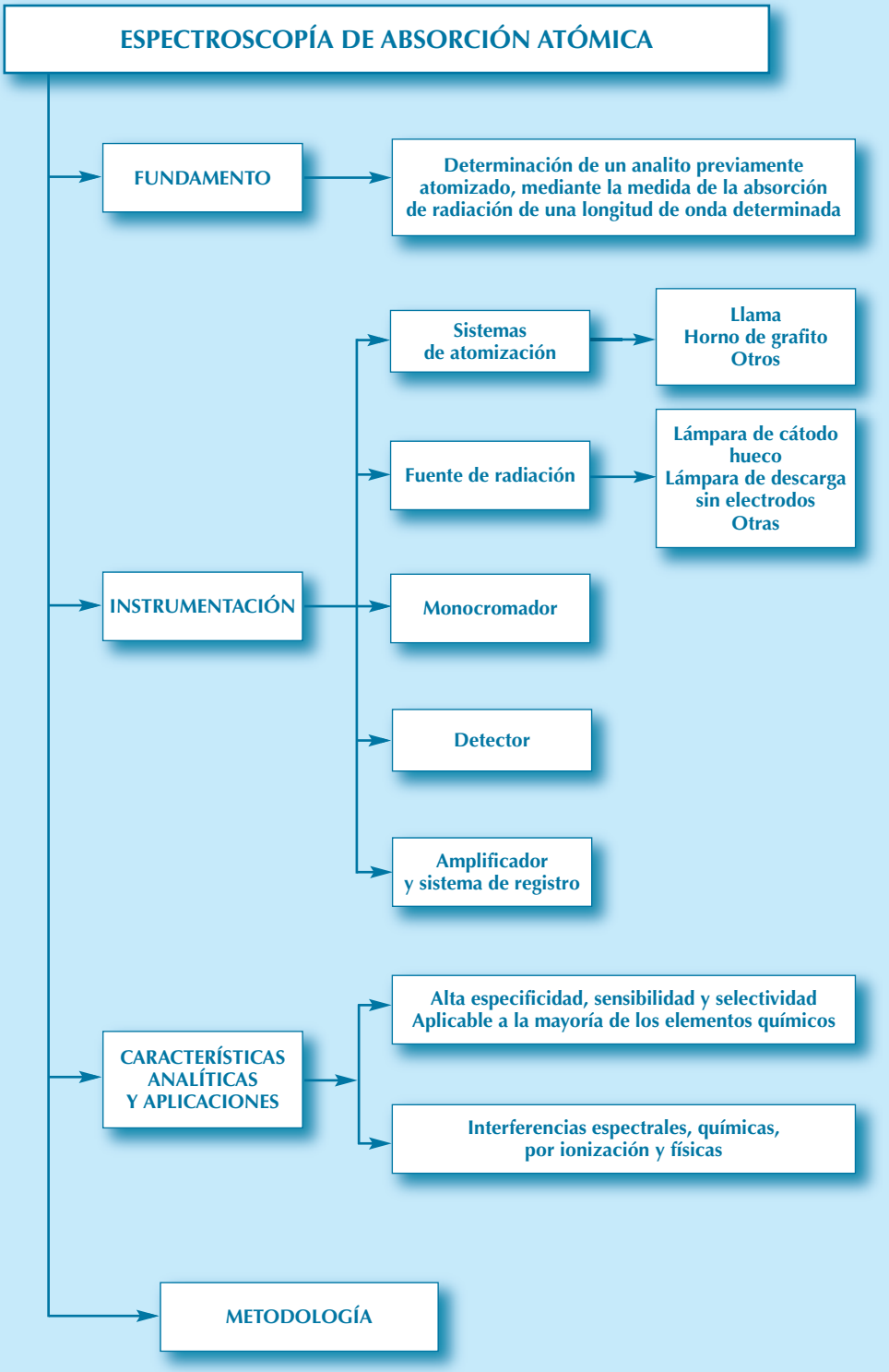
9

Espectroscopía de absorción atómica

Objetivos

1. Entender los fundamentos de la espectroscopía de absorción atómica.
2. Conocer los diferentes sistemas de atomización de la muestra, así como el resto de los componentes de un espectrofotómetro de absorción atómica.
3. Considerar las diferentes variables que se han de tener en cuenta para el manejo correcto de un espectrofotómetro de absorción atómica.
4. Saber realizar determinaciones aplicando la técnica de absorción atómica.
5. Obtener y expresar adecuadamente un resultado analítico a partir de la técnica de absorción atómica.

Mapa conceptual del capítulo


ESPECTROSCOPÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA
FUNDAMENTO
Determinación de un analito previamente atomizado, mediante la medida de la absorción de radiación de una longitud de onda determinada
INSTRUMENTACIÓN
Sistemas de atomización
Llama
Horno de grafito
Otros
Fuente de radiación
Lámpara de cátodo hueco
Lámpara de descarga sin electrodos
Otras
Monocromador
Detector
Amplificador y sistema de registro
CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS Y APLICACIONES
Alta especificidad, sensibilidad y selectividad
Aplicable a la mayoría de los elementos químicos
Interferencias espectrales, químicas, por ionización y físicas
METODOLOGÍA

Glosario

Autoabsorción de la llama. Disminución de la intensidad de la radiación emitida por los átomos excitados de la zona interconal, por absorción de los átomos en estado fundamental del cono exterior de la llama.

Auntoinversión. Fenómeno que ocurre cuando las corrientes de la lámpara de cátodo hueco son muy grandes; se produce un gran número de átomos no excitados que absorben la radiación emitida por los átomos excitados.

Deflexión. Desviación de la dirección de una corriente.

Efecto Venturi. Un fluido (gas o líquido) ejerce menos presión en aquellas zonas en donde la velocidad del fluido es mayor. Un fluido en movimiento dentro de un conducto cerrado disminuye su presión al aumentar su velocidad tras pasar por una zona de sección menor; si en ese punto del conducto se introduce el extremo de otro conducto, se produce una aspiración del fluido contenido en este segundo conducto.

Fluorescencia. Emisión de un fotón cuando el analito regresa a un estado de menor energía con el mismo espín que en el estado de mayor energía, al que ha llegado como resultado de una absorción previa de radiación.

Líneas de resonancia. Línea de un espectro de absorción atómica que corresponde con una transición desde el estado fundamental a niveles superiores.

N_2O. Tradicionalmente conocido como óxido nitroso, las nuevas normas de la IUPAC nombran a este compuesto como óxido de nitrógeno(I) o monóxido de dinitrógeno.

Orden de difracción. Cada una de las posiciones que ocupan los distintos haces de radiación resultantes de la difracción de un haz monocromático.

Óxidos refractarios. Son materiales no metálicos que tienen estabilidad química y resistencia mecánica a alta temperatura, en general superior a 1400 ºC. Por ejemplo, son óxidos refractarios la alúmina (Al_2O_3), la sílice (SiO_2) o la cal (CaO).

Rayos X. Radiación electromagnética muy energética, con un intervalo de frecuencias de entre $1{,}1\cdot10^{17}$ y $1{,}1\cdot10^{19}$Hz.

Resolución. En análisis instrumental es la capacidad o poder que tiene un instrumento de separar o distinguir dos picos, bandas o señales que se encuentran muy próximas en un espectro, cromatograma, etc.

9.1. Fundamento

La espectroscopía atómica se basa en la absorción, emisión y fluorescencia de radiación electromagnética por partículas atómicas. Se emplean principalmente radiaciones del espectro ultravioleta y visible y rayos X.

La emisión o absorción de rayos X comporta la excitación de los electrones más cercanos al núcleo y, por tanto, que no participan en enlaces. En consecuencia, los espectros atómicos de rayos X se producen con independencia del estado de combinación del elemento en la muestra.

Por el contrario, la obtención de un espectro atómico en la región ultravioleta o visible exige la conversión del analito a partículas monoatómicas en fase gaseosa (átomos o iones), dado que en estas regiones la absorción o emisión requiere la excitación de los electrones más externos. El espectro atómico puro sólo se consigue separando previamente el analito de todo lo demás a lo que esté unido, mediante la atomización de la muestra. La atomización es el proceso con el que los componentes de una molécula se convierten, por descomposición, en átomos gaseosos libres.

El espectro de absorción (o de emisión) de un elemento atomizado consiste en unas pocas líneas discretas; puesto que no hay moléculas o iones complejos, no existen estados cuánticos de vibración o de rotación, y por tanto no hay espectros de bandas.

Las líneas del espectro aparecen a una serie de longitudes de onda características de cada elemento. La intensidad de la línea está directamente relacionada con la concentración del elemento en disolución. De esta manera, con el estudio del espectro se tiene una forma inequívoca de identificar el elemento (por la posición de sus líneas), así como una manera de cuantificarlo (por la intensidad de las líneas).

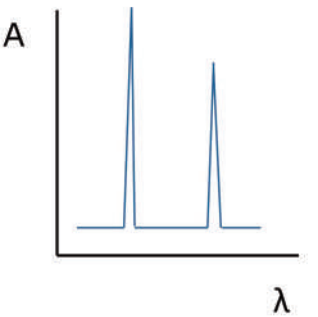


Figura 9.1
Espectro de absorción

PARA SABER MÁS

Ancho de los picos de absorción atómica

El ancho natural de un pico de absorción atómica (o emisión atómica) puede estimarse en unos 10^{-5} nm. Sin embargo, dos efectos tienden a provocar un ensanchamiento:

- *Ensanchamiento por efecto Doppler*. Se debe al rápido movimiento de las partículas que absorben o emiten respecto al detector. Para aquellos átomos que se desplazan alejándose del detector, la longitud de onda experimenta un aumento efectivo, conocido como efecto Doppler; entonces se absorben o emiten algunas longitudes de onda más largas. Ocurre lo inverso para los átomos que se mueven hacia el detector.
- *Ensanchamiento por efecto de presión*. Las colisiones entre átomos provocan pequeños cambios de los estados fundamentales de energía y, en consecuencia, el ensanchamiento de picos.

El aumento de temperatura incrementa ambos efectos. Por ello, se observan picos más anchos cuando se trabaja a elevada temperatura.

La espectroscopía de absorción atómica (EAA) consiste en la determinación de un analito previamente atomizado, mediante la medida de la absorción de radiación de una longitud de onda determinada. Esta radiación es absorbida selectivamente por átomos que tengan niveles energéticos cuya diferencia en energía corresponda en valor a la energía de los fotones incidentes. La cantidad de fotones absorbidos está determinada por la ley de Lambert-Beer, que relaciona la absorción con la concentración de la especie absorbente.

Los átomos absorben aquellas radiaciones cuyas energías coinciden exactamente con las de sus transiciones electrónicas. Las transiciones que más se van a producir y a detectar son las correspondientes a la excitación del átomo desde el estado fundamental a uno de sus estados excitados. En un espectro estas transiciones dan lugar a las denominadas líneas de resonancia. Las líneas espectrales correspondientes a transiciones desde un estado excitado a otro estado excitado son generalmente tan débiles que no se detectan, debido al escaso número de átomos en estado excitado. La figura 9.2 muestra un ejemplo de transiciones electrónicas y el espectro de absorción atómica originado por las mismas.

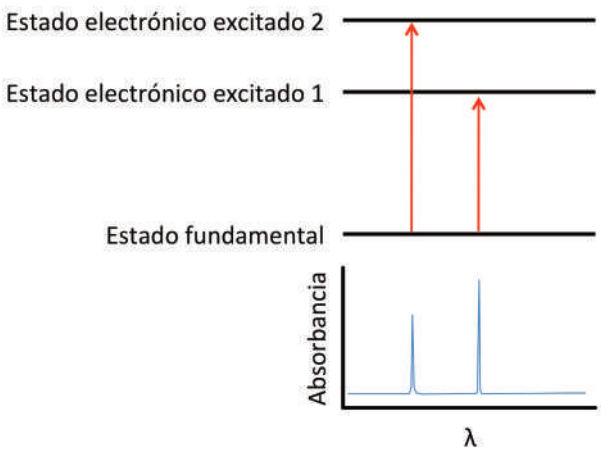


Figura 9.2
Transiciones electrónicas y espectro de absorción originado

Por otra parte, la limitada anchura de las líneas crea un problema de medida: para que se cumpla la ley de Lambert-Beer es necesario que la anchura de banda de la fuente sea estrecha respecto a la anchura de un pico de absorción. Pero ni los monocromadores de mejor calidad ofrecen un ancho de banda tan estrecho. Por tanto, si se hacen medidas de absorción atómica usando un espectrofotómetro equipado con una fuente continua, inevitablemente se obtendrían curvas de calibrado no lineales, y sensibilidades bajas. Este problema se ha resuelto empleando una fuente de radiación que emita una línea de la misma longitud de onda que la usada por el analito para pasar al estado excitado.

9.2. Instrumentación

Un instrumento para absorción atómica tiene los siguientes componentes básicos: fuente de radiación, compartimiento para la muestra, monocromador, detector, y amplificador y sistema de

procesamiento de datos. Además, como la muestra no recibe directamente la radiación para su absorción, sino que previamente tiene que ser atomizada, debe existir un sistema de atomización (figura 9.3).

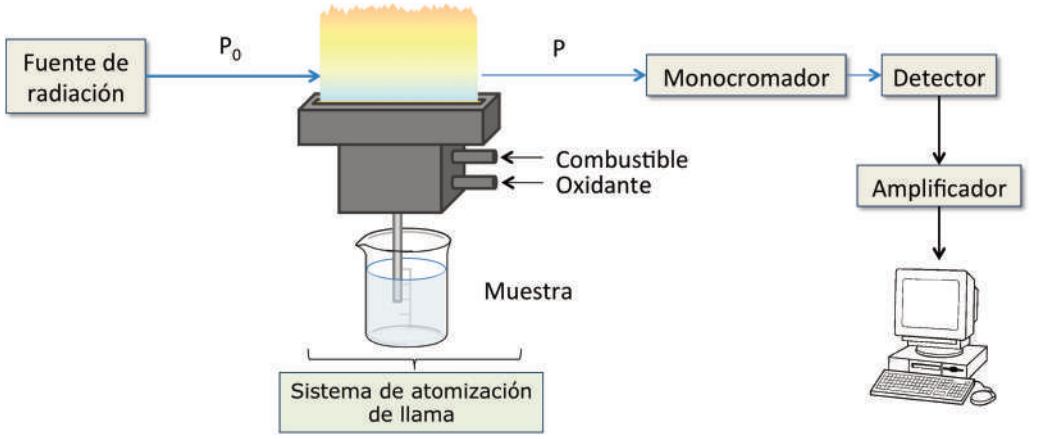


Figura 9.3
Partes principales de un espectrómetro de absorción atómica de llama de un solo haz

Los espectrómetros de absorción atómica se diseñan usando las ópticas de haz único o de haz doble ya descritas para los espectrofotómetros de absorción molecular. Los más usados son los de haz doble, ya que compensan las inevitables fluctuaciones que se producen, estabilizando la línea de base. Se basan en dividir el haz de luz de la fuente en dos haces, uno para la muestra, que pasa por el sistema de atomización, y el segundo, que es el de referencia, que llega directamente al monocromador (figura 9.4). La ventaja fundamental de este diseño es que las correcciones se hacen a una frecuencia de milésimas de segundo.

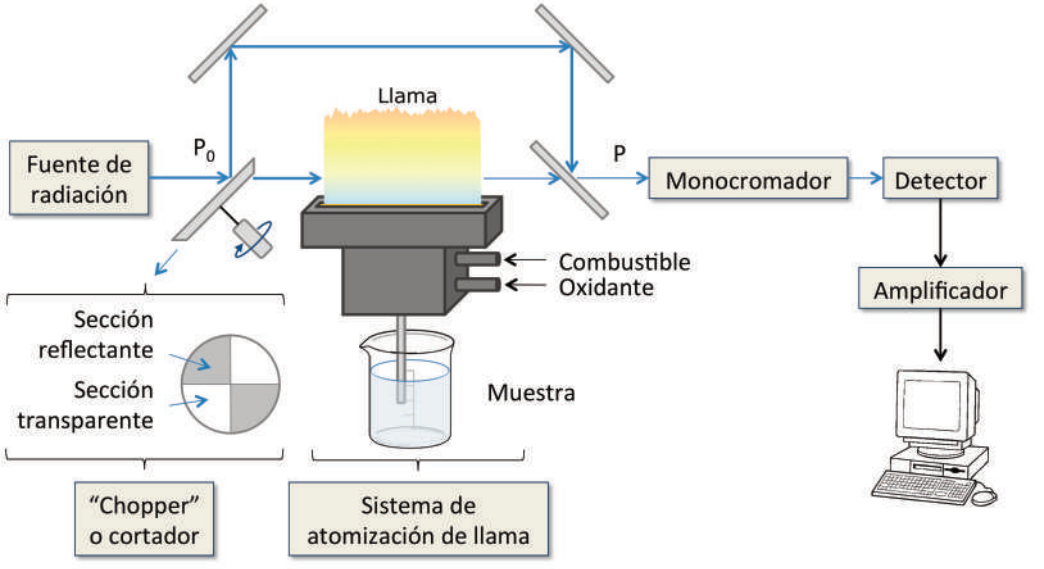


Figura 9.4
Espectrómetro de absorción atómica de llama de haz doble

9.2.1. Sistema de atomización

A) Atomización de llama

La técnica de atomización más usada es la de llama. El sistema se compone normalmente de una cámara de nebulización (o nebulizador) y un quemador (figura 9.5).

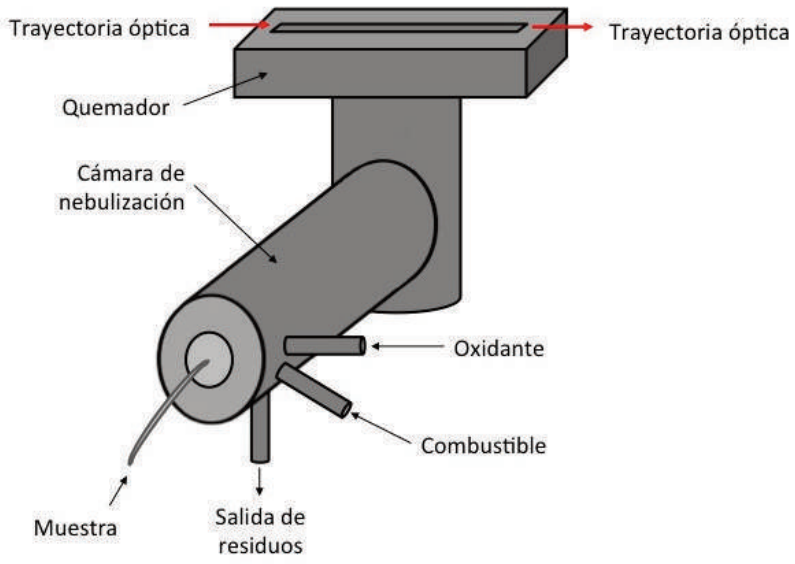


Figura 9.5
Conjunto nebulizador-quemador para atomización con llama

La atomización conlleva las siguientes etapas:

a) La muestra en disolución es aspirada a través de un tubo capilar y conducida al nebulizador. La aspiración se consigue haciendo pasar un chorro a alta presión, formado por uno o varios gases de combustión, por el extremo del tubo capilar inmerso en la muestra (por efecto Venturi). El sistema descrito es el más habitual, pero pueden utilizarse bombas peristálticas, o incluso jeringas que inyecten la muestra en el nebulizador. En cualquier caso, es necesario trabajar en condiciones de velocidad de aspiración idénticas en la muestra y en los patrones.

b) En el nebulizador la muestra impacta sobre un cuerpo sólido de geometría y diseño adecuados, denominado perla o esfera de impacto, convirtiéndose así en una fina niebla formada por pequeñas gotitas de disolución. El nebulizador tiene un conducto adicional

por donde llegan el resto de gases de combustión que sean precisos, mezclándose con la niebla formada. Otra de las líneas conectadas a la cámara de nebulización es el tubo de drenaje. La finalidad de éste es desechar las gotas que por su mayor tamaño condensan en la esfera de impacto (ver "Para saber más" en la página siguiente).

c) Las pequeñas gotas formadas son arrastradas por el flujo de gases de combustión y pasan al quemador o mechero. En éste ocurren los siguientes fenómenos:

- *Desolvatación*. El disolvente es vaporizado produciéndose un aerosol molecular sólido finamente dividido.
- *Vaporización*. Las moléculas pasan al estado líquido y luego al gaseoso.
- *Disociación*. Las moléculas se disocian formando un gas atómico.
- Además ocurren otros hechos, como la *ionización*; ocurre cuando la temperatura es lo suficientemente alta o el elemento posee bajo potencial de ionización; entonces, parte de los átomos del elemento pueden perder uno o más de sus electrones, ionizándose parcialmente. También se forman otras moléculas y átomos en la llama como resultado de las interacciones del gas combustible con el gas oxidante y con los distintos componentes de la muestra. Y por último, una fracción de las moléculas, átomos e iones pueden excitarse por el calor de la llama, produciéndose así espectros de emisión moleculares, atómicos e iónicos. Todos estos hechos no es deseable que ocurran, y es lo que puede limitar la precisión de la técnica.

Los procesos descritos se esquematizan en la figura 9.6.

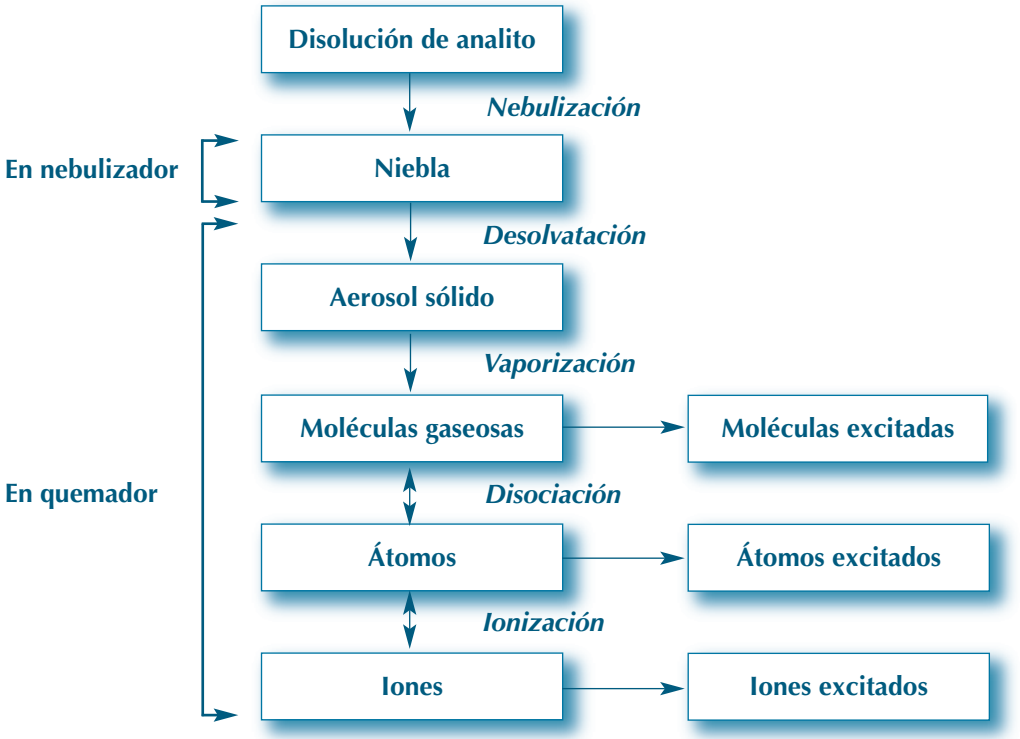


Figura 9.6
Procesos que tienen lugar durante la atomización de la muestra

PARA SABER MÁS

Nebulización

La eficiencia y el grado en que la disolución aspirada forma pequeñas gotas de rocío son sumamente importantes, ya que la reproductibilidad y la sensibilidad de esta técnica dependen en gran parte de este paso en la operación del nebulizador.

Únicamente las partículas que tienen un diámetro inferior a 10 mm, lo que representa solo una pequeña fracción del volumen de muestra aspirada, llega finalmente al quemador. Más del 90% de la disolución es desechada a través del tubo de drenaje del nebulizador.

La finalidad es evitar que partículas demasiado grandes alcancen el quemador. Las gotitas mayores no son adecuadas porque se vaporizan de forma incompleta, reducen la temperatura de la llama e incrementan el ruido de fondo.

Cuando se utilizan disolventes distintos del agua, varía la eficacia de la nebulización. Con 90% de metanol se consigue un rendimiento tres veces mayor que con agua. Obviamente, las propiedades físicas del disolvente (viscosidad, densidad, tensión superficial, punto de ebullición, presión de vapor, etc.) afectan a la sensibilidad de las medidas de absorción atómica. Asimismo, los detergentes y surfactantes modifican el tamaño de las gotitas y alteran la eficacia de la nebulización.

- *Llama*

Una llama es el resultado de una reacción exotérmica entre un gas combustible y un agente oxidante gaseoso. Debido a la naturaleza crítica de la etapa de atomización, es importante comprender las características de las llamas y las variables que afectan a dichas características.

En la llama se pueden distinguir tres zonas (figura 9.7):

a) La zona interna o de combustión primaria: es la más próxima al mechero. La combustión es incompleta, suele ser de color azul y con temperatura relativamente baja. Casi nunca se utiliza en trabajos analíticos.

b) La zona intermedia o región interconal: es la parte más caliente de la llama; en ella tiene lugar la combustión completa. Es la zona de la llama más utilizada en espectroscopía analítica.

c) La zona externa o de combustión secundaria: esta parte se enfría por el aire circundante y no se utiliza demasiado.

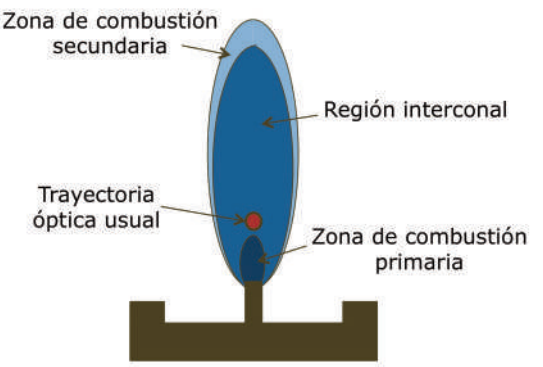


Figura 9.7
Partes de la llama

El aspecto y el tamaño relativo de las regiones de la llama varían considerablemente con el tipo y la relación combustible-oxidante. Cada elemento presentará en la llama un perfil de absorbancia diferente, en función de reacciones secundarias que pudieran producirse según se encuentre en una zona de la llama u otra. Por tanto, para el análisis de cada elemento se deberá utilizar la zona de la llama en la que su absorbancia sea máxima. El ajuste de la posición de la llama respecto a la rendija de entrada del monocromador es, por tanto, crítico.

La llama debe ser en lo posible transparente, es decir, no debe absorber radiación proveniente de la lámpara. Además, la llama debe poseer una alta eficiencia en la producción de átomos libres y debe evitar que ocurran reacciones del elemento que se va a determinar con productos de la combustión o con otros componentes de la muestra.

El parámetro que se utiliza normalmente para caracterizar una llama es la temperatura de la región intermedia, que viene dada por la mezcla de gases que se utilice. Es difícil de medir exactamente, porque influyen las velocidades relativas de combustible y oxidante. En el cuadro 9.1 se enumeran los combustibles y oxidantes más comunes usados en espectroscopía de llama, así como los intervalos aproximados de temperatura alcanzados con cada una de estas mezclas.

CUADRO 9.1
Oxidantes y combustibles más utilizados, con el intervalo de temperatura alcanzable con cada mezcla

Oxidante	Combustible	Temperatura (°C)
Aire	Gas natural	1700-1900
Aire	Hidrógeno	2000-2100
Aire	Acetileno	2100-2400
N_2O	Acetileno	2600-2800
Oxígeno	Gas natural	2700-2800
Oxígeno	Hidrógeno	2550-2700
Oxígeno	Acetileno	3050-3150

Generalmente, la elección de la mezcla de gases dependerá de la temperatura requerida para la disociación de los compuestos y de las características químicas del elemento que se va a determinar.

La llama más habitual es la formada por aire/acetileno, debido a que ofrece para muchos elementos una temperatura y un medio ambiente adecuados para la atomización. La llama es completamente transparente y solamente muestra autoabsorción por debajo los 230 nm.

La llama N_2O/acetileno permite la determinación de aquellos elementos que no se pueden determinar con la llama aire/acetileno, como Al, Si y Ti. Esta llama posee una baja velocidad de combustión, por lo que ofrece un medio ambiente químico, térmico y óptimo favorable, pero presenta dos inconvenientes: se ionizan muchos elementos y muestra una emisión relativamente fuerte.

- *Quemador*

El sistema descrito de nebulizador-quemador se denomina de premezcla o de flujo laminar, y es el habitual en EAA (figura 9.5).

Según el tipo de llama que se utilice, se emplean diferentes cabezales. Se construyen de titanio para que posean resistencia al calor y a la corrosión, siendo los más empleados los de 10 cm de ranura simple (para la llama acetileno/aire), de 5 cm (para la llama acetileno/N_2O) y de 10 cm de ranura triple para disoluciones con alto contenido en sólidos.

La altura de la llama sobre la cabeza del quemador se puede controlar mediante un ajuste del flujo de mezcla de combustible. El haz de luz pasará a través de la llama por el eje más largo del quemador y llegará al detector.

B) Atomización electrotérmica

Los atomizadores electrotérmicos, también conocidos como hornos de grafito, están formados por un tubo cilíndrico de grafito de 1 a 3 cm de longitud y de 3 a 8 mm de diámetro, sujeto por dos electrodos de grafito (figura 9.8). Este tubo de grafito se encuentra alojado en un sistema que sella los extremos del tubo con unas ventanas ópticamente transparentes. El conjunto también permite el paso de un chorro continuo de gas inerte, que protege al grafito de la oxidación y elimina los productos gaseosos que aparecen durante la atomización. No obstante, cuando se lleva a cabo la medida, el flujo de gas interno cesa para maximizar el tiempo que los átomos del analito están en la zona de medida.

El tubo de grafito tiene un orificio central de pequeño calibre para la introducción de la muestra en disolución con micropipetas o con sistemas automáticos, más reproducibles. Se trabaja con volúmenes pequeños de muestra, entre5 y 50 μL. También pueden analizarse muestras sólidas. Una forma es pesar la muestra finamente pulverizada en una navecilla de grafito e insertarla en el horno. Una segunda manera es preparar una suspensión de la muestra pulverulenta mediante agitación por ultrasonidos en un medio acuoso; la suspensión se introduce a continuación en el horno como se hace con los líquidos.

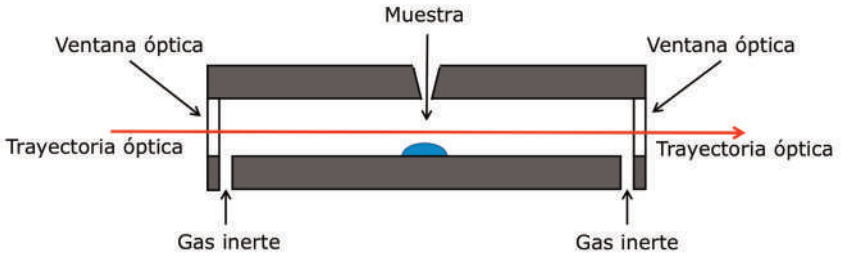


Figura 9.8
Esquema de un atomizador electrotérmico

La atomización se hace en tres fases (figura 9.9):

- 1.ª fase: la muestra se seca usando una corriente que eleva la temperatura del tubo de grafito hasta unos 110 °C. Así la muestra queda en forma de residuo sólido.
- 2.ª fase: se produce la calcinación, de forma que todo el material orgánico que pudiera existir en la muestra se convierte en CO_2 y H_2O. El flujo de gas inerte elimina los gases que se producen.
- 3.ª fase: la muestra se atomiza por un rápido aumento de temperatura (2000- 3000 °C), al incrementarse en varios cientos de amperios la corriente.

Las tres fases se completan en unos 45-90 segundos, de los que la mayor parte corresponde al secado y calcinación. La atomización en sí de la muestra se produce en un periodo de tiempo de unos pocos milisegundos a segundos. En estas condiciones se mide la absorción de las partículas atómicas en la zona situada inmediatamente por encima de la superficie calentada, dando como resultado un pico de absorbancia transitorio.

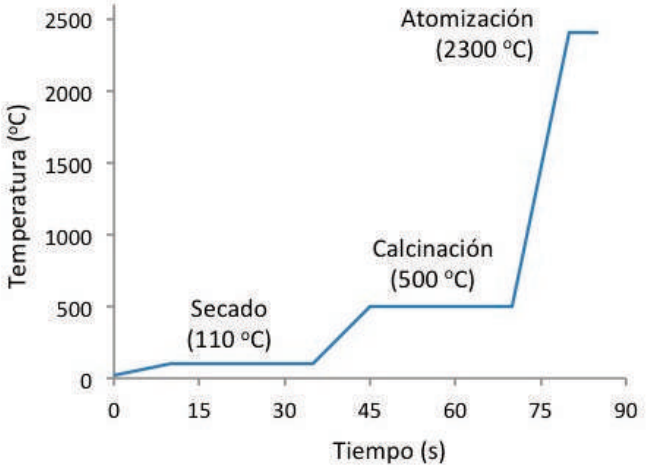


Figura 9.9
Ejemplo de fases de atomización en un atomizador electrotérmico

Estos atomizadores presentan diversas ventajas, como alta eficiencia en generar vapor atómico (mejorando ampliamente la sensibilidad), empleo de pequeños volúmenes de muestra y la posibilidad del análisis directo de muestras sólidas. Como contrapartida existe una significativa disminución de la precisión: la atomización depende en gran medida del contacto de la muestra con el tubo de grafito, lo que resulta difícil de controlar de manera reproducible.

C) Otros sistemas de atomización

- *Introducción de muestras por generación de hidruros*

La técnica de generación de hidruros proporciona un método para analizar muestras que contienen arsénico, antimonio, estaño, selenio, bismuto y plomo. Esta técnica mejora los límites de detección de estos elementos, hecho muy positivo dado que es muy importante su determinación a concentraciones muy bajas, debido a la alta toxicidad de algunos de ellos.

La técnica consiste en generar hidruros volátiles adicionando una disolución acuosa acidificada de la muestra a una disolución de borohidruro de sodio en un frasco de vidrio. El hidruro generado es arrastrado a la cámara de atomización por un gas inerte. La cámara es un tubo de cuarzo (o sílice) calentado a varios cientos de grados centígrados en un horno o en una llama, donde se descompone el hidruro generando los átomos del analito (figura 9.10).

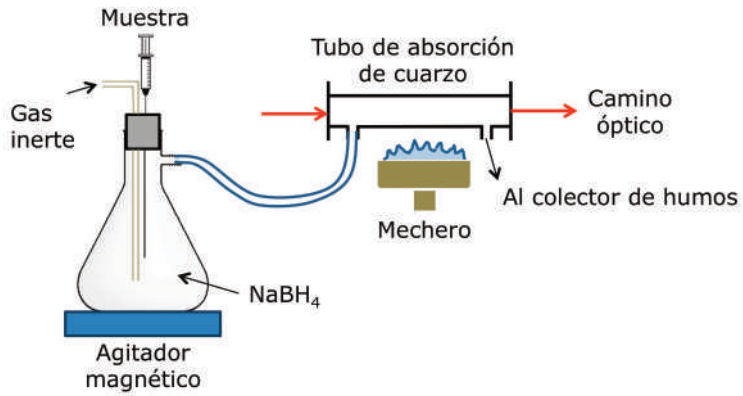


Figura 9.10
Sistema de generación de hidruros y atomización

- *Atomización por descarga luminiscente*

El dispositivo de descarga luminiscente permite introducir y atomizar la muestra simultáneamente. La descarga luminiscente tiene lugar en una atmósfera de argón a baja presión entre un par de electrodos. El potencial aplicado causa la descomposición del argón en iones positivos y electrones. El campo eléctrico acelera los iones argón hacia la superficie del cátodo que contiene la muestra. Se produce la expulsión de átomos neutros de la muestra por un proceso denominado "chisporroteo". Los átomos proyectados son succionados hacia el eje del dispositivo, donde absorben la radiación procedente de la fuente del espectrofotómetro.

• *Atomización en vapor frío*

La técnica de atomización en vapor frío solo es aplicable a la determinación de mercurio, ya que es el único elemento metálico que tiene una presión de vapor apreciable a temperatura ambiente.

El mercurio se transforma a ion Hg^{2+} por tratamiento de la muestra en una mezcla oxidante, seguido de una reducción del ion Hg^{2+} a Hg^{0} con $SnCl_2$ (después de eliminar el exceso de oxidante). El mercurio elemental es conducido entonces hacia la trayectoria óptica del equipo, burbujeando con un gas inerte. El análisis se completa midiendo la absorbancia a 253,7 nm, sin necesidad de llama ni atomización electrotérmica.

PARA SABER MÁS

Determinación de metales pesados

En relación con el medio ambiente, es muy importante conocer las concentraciones de metales pesados en aguas potables, debido a su toxicidad. Incluso un agua que contenga concentraciones muy bajas, si se utiliza prolongadamente puede resultar peligrosa, pues en muchos casos el efecto es acumulativo. Así por ejemplo, las concentraciones máximas permitidas de plomo y mercurio en aguas se encuentran por debajo de 0,05 mg/L. La determinación de estos elementos a esos niveles de concentración es difícil de llevar a cabo. El plomo puede determinarse por absorción atómica empleando la técnica de generación de hidruros, mientras que el mercurio puede cuantificarse utilizando la técnica del vapor frío.

9.2.2. Fuente de radiación

Como ya se ha dicho en el apartado de "Fundamento", en espectroscopía de absorción atómica no pueden utilizarse fuentes de radiación continua; en esta técnica se usarán fuentes de radiación que emiten la línea espectral del elemento de interés. Por tanto se necesitará una lámpara distinta para cada elemento analizado, constituyendo un inconveniente de esta técnica.

Las fuentes de radiación habitualmente utilizadas en EAA son (A) la lámpara de cátodo hueco y (B) la lámpara de descarga sin electrodos.

A) Lámparas de cátodo hueco

La lámpara de cátodo hueco es la fuente de radiación más común. Consiste en un tubo de vidrio que contiene argón o helio a muy baja presión y dos electrodos. El ánodo suele ser de wolframio, y el cátodo, de forma cilíndrica, está construido con el metal que se va a determinar, o bien con un material soporte recubierto de una capa de este metal (figura 9.11). Cuando se aplica una diferencia de potencial suficiente entre los dos electrodos tiene lugar la ionización

del gas, la corriente circula y los iones emigran hacia los electrodos. Si el potencial es lo bastante grande, los cationes gaseosos adquieren la suficiente energía cinética para arrancar átomos metálicos de la superficie del cátodo. Algunos de estos átomos metálicos son excitados al chocar con los iones gaseosos, y al retornar a su estado fundamental emiten radiación, que será característica del metal en cuestión.

Al apagar la lámpara, los átomos metálicos vaporizados tienden a depositarse sobre las paredes del cátodo o sobre las paredes de vidrio del tubo, minimizándose esta última posibilidad por el diseño cilíndrico del cátodo. No obstante, una fracción de los mismos se depositará en las paredes dejando de ser útiles para un nuevo ciclo. Por ello la lámpara acaba gastándose, aunque tiene un tiempo de vida relativamente largo (500-1000 horas).

El hecho de que los diferentes elementos tengan que ser determinados de uno en uno hace que la absorción atómica no sea una técnica efectiva para la identificación de los elementos presentes en una muestra. Solo es aplicable para el análisis cuantitativo.

Normalmente, para cada elemento se utiliza una lámpara, si bien se han comercializado lámparas multielementales que tienen el cátodo formado por varios elementos. Estas lámparas se construyen con aleaciones de diferentes metales que tengan similares puntos de fusión y volatilidad, como por ejemplo, Ca/Mg, Ag/Au o Cu/Pb/Zn. El coste de una lámpara multielemental es menor a la suma del coste de cada una de las lámparas individuales, pero este tipo de lámparas no tienen la intensidad ni la pureza espectral que proporciona una lámpara individual.

Los instrumentos de EAA suelen venir equipados con una torreta giratoria donde se pueden instalar varias lámparas para facilitar el análisis secuencial de varios elementos diferentes (figura 9.12).

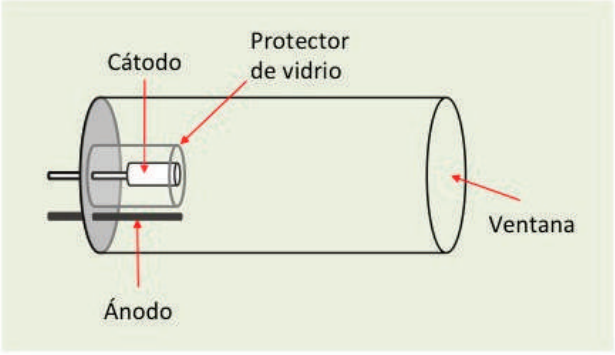


Figura 9.11
Esquema de lámpara de cátodo hueco



Figura 9.12
Torreta giratoria con cuatro posiciones para lámparas de cátodo hueco

EJEMPLO 1

La lámpara de cátodo de hueco de cobre tiene varias líneas de emisión. Para realizar determinaciones de cobre, se elige la longitud de onda de 324,8 nm. ¿Por qué?

λ (nm)	Anchura rendija (nm)	mg Cu/L para A = 0,20	P_0 (relativa)
217,9	0,2	15	3
218,2	0,2	15	3
222,6	0,2	60	5
244,2	0,2	400	15
249,2	0,5	200	24
324,8	0,5	1,5	100
327,4	0,5	87	87

A 324,8 nm se encuentra una absorbancia de 0,20 con una disolución de 1,5 mg Cu/L. Para encontrar la misma absorbancia a otras longitudes de onda se hace necesario mayor concentración de cobre. Por tanto, a esa longitud de onda tenemos la máxima sensibilidad. Además, es la longitud de onda de emisión más intensa.

B) Lámpara de descarga sin electrodos

Una lámpara de descarga sin electrodos típica está constituida por un tubo de cuarzo herméticamente cerrado que contiene un gas inerte, como el argón, a muy baja presión y una pequeña cantidad del metal (o su sal) para el cual se va a usar la lámpara. Para la activación se utiliza un campo intenso de radiofrecuencias o radiación de microondas. De esta forma se produce la ionización del gas, originándose iones que son acelerados hasta que adquieren la suficiente energía para excitar a los átomos del metal. Al volver a su estado fundamental, emitirán radiación.

Estas lámparas son más duraderas y ofrecen mayor intensidad de emisión que las de cátodo hueco, pero solo se fabrican para elementos fácilmente volatilizables, como Se, Sb, o Sn, son más caras, y necesitan un mayor tiempo para estabilizarse.

PARA SABER MÁS

Modulación

En un instrumento de absorción atómica típico es necesario eliminar las interferencias producidas por la emisión de radiación de la llama. La mayor parte de la radiación que emite se elimina mediante el monocromador. Sin embargo, también desde la llama puede emitirse radiación de la longitud de onda seleccionada por el monocromador.

Para evitarlo, se modula la radiación de la fuente para que su intensidad oscile a una frecuencia constante. De esta forma, el detector recibe dos tipos de señal, una que viene de la fuente y otra de la llama. Para ello se interpone entre la fuente y la llama un disco metálico circular ("*chopper*" o cortador), al que se le han eliminado de forma alterna sectores circulares (figura 9.4). La rotación del disco a velocidad constante y conocida proporciona un haz intermitente cortado a la frecuencia deseada.

9.2.3. Monocromador

Los instrumentos de absorción atómica deben ser capaces de proporcionar una anchura de banda lo suficientemente estrecha como para permitir separar la línea escogida para la medición de las otras líneas capaces de interferir o disminuir la sensibilidad del análisis. Para la mayor parte de los elementos para analizar, el requisito es fácil de conseguir, pues las diferentes líneas suelen estar bastante separadas. Esto hace que no sea necesario un monocromador de alta resolución, y en consecuencia, que no se encarezca el precio del aparato, siendo este uno de los factores que más ha contribuido a que la técnica sea muy utilizada en la práctica ordinaria del análisis.

Las anchuras de rendija juegan un papel importante, al determinar la fracción del espectro que incide en el detector. La rendija deberá ser lo más estrecha posible, con objeto de reducir la cantidad de radiación emitida por la llama que llega al detector. Algunos instrumentos comerciales están provistos de dos tipos de rendijas, para usarlas con llama o con atomización electrotérmica respectivamente.

Los aparatos comerciales suelen venir equipados con monocromadores del tipo de prisma o red de difracción, ya descritos en el capítulo 7.

PARA SABER MÁS

Monocromadores dobles

Los equipos de última generación de absorción atómica vienen equipados por un doble monocromador, una combinación de un prisma y una red Echelle. Una red Echelle es un tipo de red de difracción fabricada con menos surcos por milímetro, que opera a un alto ángulo de incidencia y a un alto número de orden de difracción. Con esta combinación, la separación espectral y el rendimiento óptico son mucho mayores que en los diseños clásicos, y el tamaño del equipo se reduce notablemente. Una resolución típica con equipos con doble monocromador es de 1,2 nm, mientras que en un equipo clásico es de 2,0 nm o mayor.

Este sistema también se usa en los equipos de plasma (emisión atómica).

9.2.4. Detector

Los detectores miden la intensidad de la radiación antes y después de la absorción por la muestra. A partir de los valores obtenidos se calcula la radiación absorbida.

El detector universalmente usado en absorción atómica es el tubo fotomultiplicador, ya que ningún otro sistema ofrece la misma sensibilidad en el margen de longitudes de onda utilizado en esta técnica.

9.3. Características analíticas y aplicaciones

La técnica de EAA posee las ventajas de alta especificidad, amplia aplicabilidad y excelente sensibilidad. Se considera entre las técnicas analíticas más selectivas. Por lo general, basta con unos pocos minutos para realizar el análisis, y el aparato es de manejo sencillo. Como inconvenientes de la técnica cabe señalar que solo se pueden analizar elementos de uno en uno (no es posible el análisis simultáneo), y que existen diversos tipos de interferencias. Tampoco es aplicable al análisis cualitativo.

La absorción atómica es una técnica capaz de detectar y determinar cuantitativamente la mayoría de los elementos químicos, por lo que sus campos de aplicación son variados. Se emplea en análisis de aguas, de suelos, bioquímica, toxicología, medicina, e industrias farmacéutica, alimentaria, petroquímica, metalúrgica, etc.

Generalmente se trabaja con las muestras en disolución, aunque puede hacerse el análisis directo de muestras sólidas si se utiliza la atomización electrotérmica.

Este requisito de disolución de la muestra en los métodos espectroscópicos de llama constituye otro inconveniente; muchos materiales de interés, como suelos, tejidos animales, plantas, derivados del petróleo y minerales, no son directamente solubles en los disolventes habituales, y con frecuencia requieren un tratamiento previo laborioso para obtener una disolución del analito. De hecho, las etapas de descomposición y disolución a menudo llevan más tiempo e introducen más errores que la propia medida espectroscópica.

Los atomizadores electrotérmicos eliminan este inconveniente pues pueden trabajar con muestras sólidas, como ya se ha dicho. También presentan la ventaja de una elevada sensibilidad para volúmenes muy pequeños. No obstante, su precisión no es tan buena como cuando se utiliza una atomización por llama. Además, son métodos más lentos y el intervalo analítico es más pequeño. Por ello, la atomización electrotérmica se aplica solo cuando la atomización por llama resulta inadecuada.

- *Interferencias*

Las interferencias que se pueden producir en espectroscopía de absorción atómica se clasifican en espectrales, químicas, de ionización y físicas.

1. *Interferencias espectrales*

Las interferencias espectrales se producen cuando la línea de absorción de un analito se superpone o aparece muy próxima a la línea o banda de absorción de un interferente, de modo

que su resolución por el monocromador resulta imposible. Estas interferencias pueden a su vez ser de varios tipos:

a) *Las interferencias espectrales de línea* ocurren cuando hay superposición de dos líneas atómicas. Realmente esta interferencia rara vez ocurre, debido a la naturaleza tan específica de la longitud de onda que se usa y a que las líneas son muy estrechas. Además se tiene bien documentada toda la información de las líneas espectrales de los diferentes elementos, por lo cual casi siempre se sabe de antemano si se puede dar esta eventualidad.

   Si se llegan a presentar se pueden eliminar seleccionando una segunda línea de resonancia del elemento de interés.

b) *Las interferencias espectrales de banda* se producen debido a la absorción de la radiación por moléculas o radicales. El origen de estos productos puede ser la mezcla de combustible y oxidante en la atomización por llama (fácil de corregir midiendo la absorbancia de un blanco) o la matriz de la muestra. Si las bandas de absorción de estos compuestos caen dentro del rango de la línea de absorción del elemento que se va a determinar, se registrará una absorbancia superior a la debida solo al analito y por tanto un error por exceso en el cálculo de la concentración. Esta interferencia se puede corregir mediante la lámpara de espectro continuo (ver "Para saber más" más abajo).

c) *Las interferencias por dispersión por partículas* ocurren cuando partículas de sólidos causan una deflexión de parte de la radiación de la fuente fuera del eje del sistema monocromador-detector. El efecto, como en el caso anterior, es de disminución del haz transmitido dando lugar a errores analíticos positivos. Estos problemas son relevantes con muestras que contienen altas concentraciones de elementos que forman óxidos refractarios, tales como Ti o W. También es importante en muestras que contienen especies orgánicas o que van disueltas en disolventes orgánicos, ya que la calcinación incompleta de la matriz orgánica da lugar a partículas carbonosas.

Para las dos últimas interferencias descritas, que en principio son distintas, se emplea el término "absorción de fondo".

PARA SABER MÁS

Eliminación de interferencias

En la atomización de llama las interferencias que provienen de la matriz no siempre se producen y muchas veces se pueden evitar modificando los parámetros analíticos, como la temperatura y la relación combustible/oxidante. Otra alternativa es, si se conoce la causa de la interferencia, añadir un exceso de la sustancia interferente tanto a la muestra como a los patrones. Si el exceso añadido es suficientemente grande con respecto a la presencia del interferente en la matriz de la muestra, la contribución de esta última será insignificante. La sustancia añadida se denomina "amortiguador de radiación".

En la atomización electrotérmica, si bien antes el problema de las interferencias de la matriz era muy importante, en la actualidad se ha reducido al nivel encontrado en las llamas.

En general, para corregir la absorción de fondo se puede utilizar el método de corrección con fuente continua.

Este método consiste en la utilización de una lámpara de deuterio como fuente de radiación continua en toda la región ultravioleta. Se configura el equipo para que la radiación de la fuente continua y la de la lámpara de cátodo hueco pasen de forma alternada a través del atomizador de tubo de grafito. La anchura de rendija se ajusta con un ancho suficiente para que la fracción de radiación de la fuente continua que se absorbe por los átomos de la muestra sea despreciable.

De esta forma, la atenuación de la potencia de la radiación continua durante el paso a través de la muestra atomizada indica solamente la absorción o la dispersión producida por los componentes de la matriz de la muestra. La absorbancia de la radiación de deuterio se resta entonces de la del haz del analito.

2. *Interferencias químicas*

Las interferencias químicas son más comunes que las espectrales, aunque sus efectos pueden minimizarse escogiendo las condiciones de trabajo adecuadas. Las interferencias químicas son aquellas por las cuales el analito no se atomiza totalmente, sino que queda formando parte de algún compuesto químico, con la consiguiente disminución de la población de átomos libres. Pueden producirse por disociación incompleta de las moléculas que contienen el elemento a analizar o por formación de compuestos poco volátiles o termoestables con el mismo.

Las interferencias químicas pueden ser minimizadas por alguna de las siguientes vías:

- Empleo de temperaturas mayores. Por ejemplo, en atomización con llama la mezcla acetileno/N_2O es capaz de descomponer totalmente los compuestos refractarios.
- Añadir a la muestra un "agente liberador" que forme con el elemento interferente un compuesto más estable que con el elemento que se va a determinar. El ejemplo más conocido es la adición de lantano o estroncio en la determinación de calcio en presencia de fosfato.
- Preparación de las disoluciones patrón de forma que su composición sea lo más semejante posible a la disolución del analito, de forma que las posibles interferencias afecten por igual a patrones o muestras. Esta alternativa no siempre es fácil de aplicar debido a que requiere un conocimiento completo de la muestra, pero sí es posible aplicar el método de calibrado por adición estándar para que el analito tenga en los patrones el mismo "entorno químico" que en la muestra.

3. *Interferencias por ionización*

Cuando la temperatura de atomización es muy alta o el elemento pierde fácilmente uno o más de sus electrones más exteriores ocurre la ionización. La ionización es indeseable debido a que las características espectroscópicas de un átomo y sus iones son diferentes. Como ejemplo, se puede considerar la presencia de sodio atómico y de sodio ionizado (Na^+); al hacer incidir radiación de longitud de onda específica para los átomos de sodio, será absorbida por el sodio

atómico pero no por el sodio ionizado, ya que los niveles energéticos de éste son distintos. Obviamente esto conduce a un error por defecto en la determinación de la concentración de sodio.

La interferencia por ionización depende tanto de la temperatura de atomización como del potencial de ionización del elemento en estudio: su incidencia es mayor según aumenta la temperatura y el potencial de ionización disminuye.

Estas interferencias se pueden eliminar agregando a todas las disoluciones patrón y a la muestra un supresor de ionización, que proporciona una concentración relativamente alta de iones y electrones, con lo que se inhibe la ionización del analito. Los supresores de ionización son elementos fácilmente ionizables, como Na, K o Li. También se puede minimizar la interferencia utilizando menor temperatura.

4. *Interferencias físicas*

Este tipo de interferencias se produce en la atomización por llama y está relacionado con la efectividad con que la disolución es transportada hacia la misma. Son causadas por diferencias en las propiedades físicas de las disoluciones: viscosidad, tensión superficial o presión de vapor.

Una forma de compensar este tipo de interferencia es preparar las disoluciones patrón con los mismos componentes de la matriz de la muestra, o mejor aún, aplicando la técnica de la adición estándar.

9.4. Metodología

Para llevar a cabo un análisis por EAA, primeramente hay que tratar adecuadamente la muestra; a continuación seleccionar las condiciones de trabajo del aparato y, finalmente, proceder al calibrado y determinación de la concentración de la sustancia objeto de análisis. En el manejo del aparato hay que guardar las debidas medidas de seguridad. Todo esto se analiza con detalle a continuación.



Figura 9.13
Espectrómetro de absorción atómica

A) Tratamiento de la muestra

Aunque se han descrito métodos para la atomización de muestras sólidas o de suspensiones, prácticamente todas las determinaciones por absorción atómica exigen la muestra en disolución. Para la descomposición y disolución de muestras sólidas se siguen los procedimientos habituales (tratamiento con ácidos en caliente, disgregaciones a alta temperatura, etc.).

Hay que tener en cuenta que los reactivos utilizados para disolver la muestra a veces pueden originar algún tipo de interferencia, así como contener el propio analito como impureza, lo cual es importante en análisis de trazas.

Cuando se trata de sustancias orgánicas, puede llevarse a cabo una mineralización, con la posterior disolución del residuo en ácidos minerales. Asimismo, en ocasiones, es posible la disolución en disolventes orgánicos.

Las muestras líquidas generalmente llevan muy poco pretratamiento. Se pueden analizar directamente o diluirse, o extraerse (si la matriz no es compatible con el sistema de atomización).

En las muestras gaseosas normalmente se extrae el analito por borboteo de la muestra en una disolución. También se puede absorber en una superficie sólida y a continuación se lixivia con los reactivos apropiados pasando a disolución.

Para concentrar los analitos, suele recurrirse a la extracción líquido-líquido, usando un disolvente orgánico que contenga un agente quelante.

B) Condiciones de trabajo

Para el análisis de una muestra, hay que fijar las condiciones específicas del elemento que se va a analizar. Estas condiciones vienen especificadas normalmente por el fabricante del aparato.

En EAA por llama, en general habrá que seleccionar:

a) Tipo de llama, en función de la elección del oxidante y combustible que se va a emplear, así como de la proporción de ambos.
b) Región de observación en la llama. Este parámetro se selecciona regulando la altura del quemador.
c) Velocidad de aspiración de la disolución. Los nebulizadores pueden ser regulados para variar la velocidad de aspiración, que suele estar entre 1 y 4 mL/min.
d) El paso de banda espectral del monocromador empleado para la selección de la longitud de onda.
e) La intensidad de corriente de la lámpara de cátodo hueco.
f) Los parámetros del sistema de detección y lectura.

C) Calibración

Como todas las técnicas instrumentales, la EAA es una técnica relativa. Por consiguiente, es necesario establecer experimentalmente una curva (o función matemática) que relacione la señal analítica obtenida con la concentración del elemento analito en las disoluciones para analizar. Para ello se sigue uno de los dos procedimientos habituales en espectroscopía, la realización de una curva de calibrado o el método de adición estándar.

D) Seguridad

En la técnica de EAA por llama se hace del todo necesario mencionar el tema de seguridad. El calor, vapores y humos generados por la llama son peligrosos para el personal, por lo que deben ser extraídos del instrumento por un sistema adecuado de extracción de gases.

Los gases comprimidos que se utilizan en la técnica constituyen otra fuente de riesgo. Los cilindros de gases deben ser almacenados y manipulados en estricta conformidad con las regulaciones y códigos de seguridad. Deben ser utilizados y almacenados sólo en posición vertical y mantenerse fríos; la zona donde se almacenan debe estar bien ventilada para evitar acumulaciones tóxicas o explosivas. Hay que asegurarse siempre de disponer del cilindro correcto antes de conectarlo al instrumento.

En cuanto al uso del quemador de premezcla, hay que considerar la posibilidad de un "*flashback*", anglicismo que puede ser traducido como "regreso de llama". Se origina cuando la combustión de la mezcla oxidante/combustible se presenta en un lugar inadecuado, generalmente en el nebulizador, y se produce una explosión. Para evitarlo, es necesario mezclar los gases de combustión en la proporción y orden adecuados, y sobre todo evitar que la ranura de la cabeza del quemador se tapone por acumulación de sales de las disoluciones aspiradas.

Resumen

La espectroscopía de absorción atómica (EAA) consiste en la determinación de un analito previamente atomizado, mediante la medida de la absorción de radiación de una longitud de onda determinada.

El equipo está compuesto de fuente de radiación discreta, compartimento para la muestra y sistema de atomización, monocromador, detector, amplificador y sistema de procesamiento de datos.

Los distintos sistemas de atomización son los que aportan las mayores diferencias en cuanto a prestaciones del equipo. Los más habituales son la llama y el atomizador electrotérmico. La fuente de radiación más ampliamente utilizada es la lámpara de cátodo hueco.

La técnica de EAA posee grandes ventajas: alta especificidad, amplia aplicabilidad y excelente sensibilidad, así como una selectividad por encima de muchísimas técnicas. Pueden darse una serie de interferencias, que se minimizan por diversas vías.

Práctica n.º 12

Determinación de Cu y Zn en vinagre

Objetivos	• Aplicación de la técnica de absorción atómica de llama. • Determinación de Cu y Zn en una muestra de vinagre.
Procedimiento	1. Preparación de la muestra. No se necesita ningún tratamiento especial, salvo si la concentración de Cu y Zn es muy elevada; en ese caso, hacer la dilución correspondiente hasta quedar dentro del rango de medida. 2. Preparación de patrones. Preparar las disoluciones de los elementos en ácido acético al 5%. Las concentraciones para el Cu que se va a preparar son 0,25; 0,5; 2 y 5 mg/L. Y para el Zn: 0,25; 0,5; 1,0 y 2,0 mg/L. 3. Ajustar los parámetros del equipo. Las longitudes de onda de medida serán 213,8 nm para el Zn y anchura de rendija de 1,0 nm, y 324,8 nm para el Cu y anchura de rendija de 0,5 nm. Utilizar llama aire-acetileno. 4. Aspirar las disoluciones patrón, y medir su absorbancia. Igualmente, aspirar la muestra en las mismas condiciones que patrones, y medir la absorbancia para cada elemento. 5. Realizar las correspondientes rectas de calibrado. Hallar las concentraciones de Zn y Cu en la muestra de vinagre.
Notas	1. Para la preparación de patrones partir de nitrato de cobre y nitrato de zinc. Realizar una disolución madre a partir de dichas sales conteniendo 250 mg/L, e ir haciendo las diluciones correspondientes para preparar los patrones requeridos. 2. Guardar en todo momento las correspondientes medidas de seguridad, leyendo perfectamente todas las indicaciones que se detallen en las instrucciones del aparato. 3. Para el análisis de Zn es necesario hacer la corrección de la absorción de fondo con lámpara de deuterio, para compensar las interferencias de la matriz, que son muy importantes por debajo de 300 nm.



Ejercicios propuestos

1. Visita la siguiente página web:
   http://ocw.upc.edu/sites/default/files/materials/15014297/46338-4424.swf
   Visualiza la animación de todo el proceso de la espectrometría de absorción atómica y las partes principales del espectrómetro de absorción atómica.

2. Para determinar la pureza de una muestra de Na_2HPO_4 se preparan una serie de patrones de P, obteniéndose las siguientes absorbancias en un equipo de absorción atómica de llama:

[P] g/L	2,13	4,26	6,40	8,53
Absorbancia	0,048	0,110	0,173	0,230

Se disuelven 0,6172 g de la sal de fósforo y se llevan a un volumen final de 25 mL con un matraz aforado. Se mide su absorbancia en las mismas condiciones de trabajo que las usadas para los patrones y se obtiene un valor de 0,137. Determina la pureza del Na_2HPO_4.

3. Con el objeto de determinar la concentración de plata en una disolución, se prepara una serie de patrones de plata y se mide su absorbancia mediante un equipo de absorción atómica obteniéndose los siguientes resultados:

[Ag] (ng/mL)	0,00	5,00	10,00	15,00	20,00	25,00	30,00
Absorbancia	0,003	0,127	0,252	0,390	0,498	0,625	0,763

Determinar la concentración de plata en la disolución, en mg/L, si tras tomar de la misma 5 mL y llevarlos a un matraz de 250 mL, se mide la dilución resultante en las mismas condiciones que los patrones, y se encuentra una absorbancia de 0,513.

4. Se quiere determinar Co en una muestra de agua por absorción atómica siguiendo el procedimiento de adición estándar. Se disponen 5,0 mL de la muestra en varios matraces de 50 mL, y en cada uno de ellos se adicionan volúmenes crecientes de una disolución que contiene 5,50 mg/L de Co. Se enrasan los matraces, y se mide su absorbancia.

Matraz	$V_{muestra}$(mL)	$V_{patrón}$(mL)	Absorbancia
1	5,0	0,0	0,201
2	5,0	10,0	0,292
3	5,0	20,0	0,378
4	5,0	30,0	0,467
5	5,0	40,0	0,554

Calcula la concentración de Co en la muestra.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. Los inconvenientes de la técnica de EAA por llama son:
   - ☐ *a)* Se utiliza mucho gas para mantener la llama, por lo que el coste del análisis es elevado y deben reponerse con mucha frecuencia los cilindros de gas.
   - ☐ *b)* Los elementos se deben analizar de uno en uno, pueden producirse interferencias y la muestra debe estar en disolución.
   - ☐ *c)* Es una técnica muy peligrosa, y solo aplicable al análisis cualitativo.

2. La línea de absorción del hierro (213,86 nm) se superpone a la línea de resonancia del zinc (213,86 nm). ¿Se podría hacer por EAA la determinación de trazas de zinc en una matriz de hierro?:
   - ☐ *a)* Sí, utilizando otra línea de resonancia del zinc.
   - ☐ *b)* No, habría que utilizar otra técnica analítica.
   - ☐ *c)* Sí, pero no podría usarse la atomización por llama.

3. Se va a determinar Li por absorción atómica de llama:
   - ☐ *a)* Puede que se cometa un error por defecto en la determinación de su concentración, puesto que el Li se ioniza fácilmente.
   - ☐ *b)* Puede que se cometa un error por exceso en la determinación de su concentración, puesto que el Li se ioniza fácilmente.
   - ☐ *c)* Puede que se produzcan pequeñas explosiones, puesto que el Li se ioniza fácilmente.

4. Si llegan muchas partículas sólidas al quemador es posible que no ocurran todos los pasos necesarios para la descomposición de las partículas, produciendo una interferencia del tipo:
   - ☐ *a)* Interferencia por propiedades físicas de las disoluciones.
   - ☐ *b)* Interferencia por dispersión por partículas.
   - ☐ *c)* Interferencia por volatilización del analito.

5. La lámpara de cátodo hueco tiene el cátodo de forma cilíndrica, con el objeto de:
   - ☐ *a)* Emplear menos material y abaratar costes.
   - ☐ *b)* Identificarlas fácilmente.
   - ☐ *c)* Alargar la vida útil de la lámpara, al recoger a los átomos una vez que emiten la energía absorbida.

SOLUCIONES:

1. a **b** c
2. **a** b c
3. **a** b c
4. a **b** c
5. a b **c**

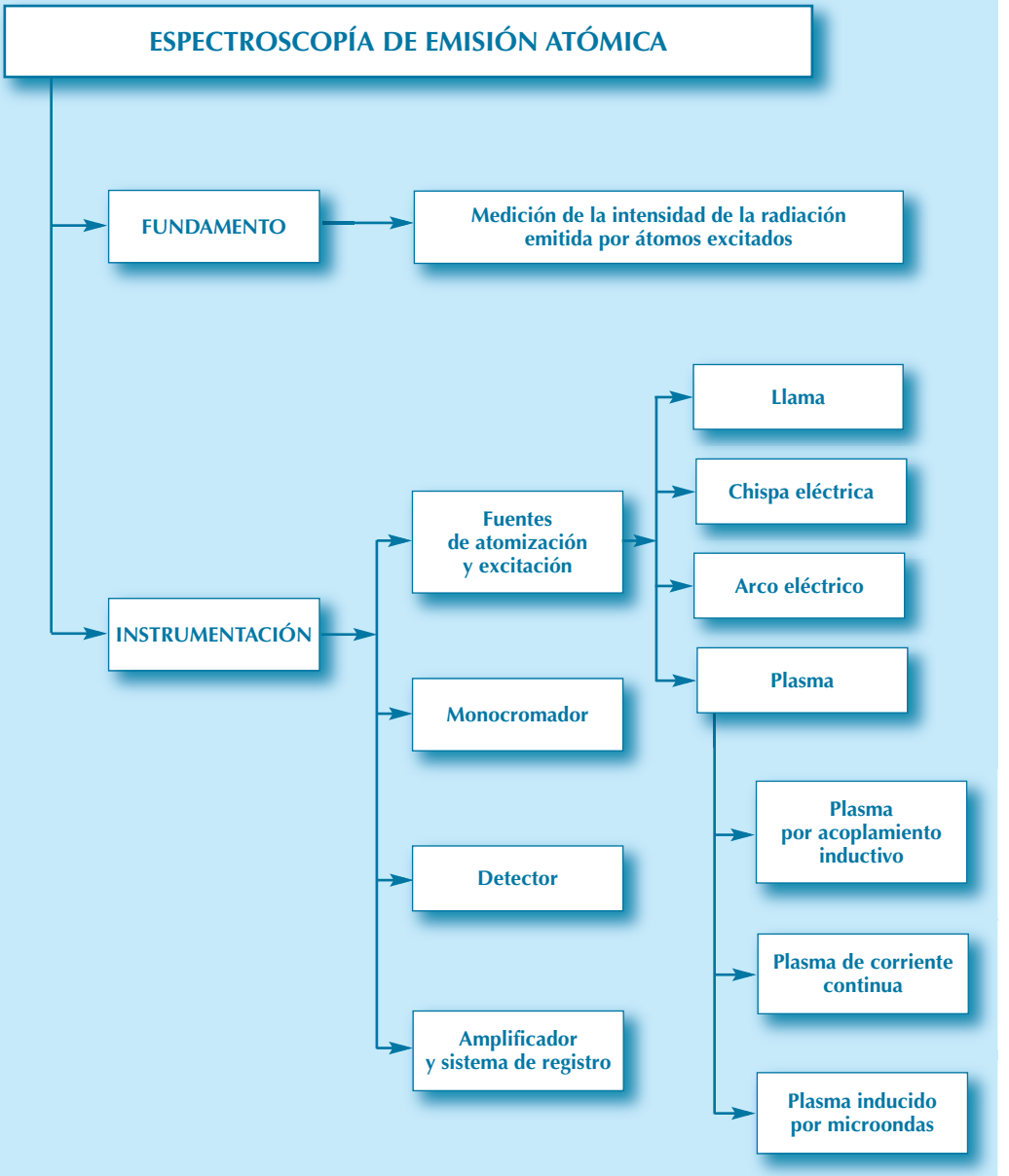
10

Espectroscopía de emisión atómica

Objetivos

1. Entender los fundamentos de la espectroscopía de emisión atómica.
2. Conocer los diferentes sistemas de atomización y excitación de la muestra, considerando sus ventajas e inconvenientes.
3. Considerar las diferentes variables que se han de tener en cuenta para el manejo correcto de un espectrómetro de emisión atómica.
4. Saber realizar determinaciones por la técnica de emisión atómica.
5. Obtener y expresar adecuadamente un resultado analítico a partir de la técnica de emisión atómica.

Mapa conceptual del capítulo



Glosario

Bobina de inducción. Tipo de transformador eléctrico utilizado para producir pulsos de alta tensión de una corriente continua de alimentación de baja tensión.

Bobina TESLA. Es un tipo de transformador resonante.

Bomba peristáltica. Tipo de bomba hidráulica de desplazamiento positivo usada para bombear fluidos.

Gas plasmógeno. Gas susceptible de producir un plasma.

Relajación. Cualquier proceso por el que el analito recupera un estado de baja energía desde un estado de alta energía.

10.1. Fundamento

Una sustancia en estado excitado posee una energía mayor que la que posee cuando se encuentra en un estado de menor energía. Cuando la sustancia se relaja o vuelve al estado de energía más baja, el exceso de energía se libera, para lo cual pueden seguirse diferentes mecanismos, como se vio en el capítulo 6. Uno de esos mecanismos es la emisión de radiación electromagnética. Si la liberación tiene lugar tras una excitación mediante una energía no radiante se denomina emisión, y la que sigue a la absorción de radiación electromagnética se conoce como fotoluminiscencia (figura 10.1). La fotoluminiscencia se verá en el capítulo 11.

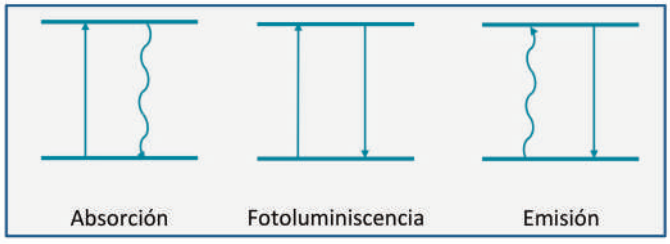


Figura 10.1
Comparativa de los fenómenos de absorción, fotoluminiscencia y emisión. Las flechas rectas indican energía radiante y las onduladas, energía no radiante

En principio la espectroscopía de emisión puede aplicarse tanto a átomos como a moléculas, pero la emisión molecular no tiene apenas aplicaciones analíticas. Este capítulo se centrará en la emisión de radiación en las regiones ultravioleta y visible tras la excitación con energía no radiante de los átomos (emisión atómica).

La espectroscopía de emisión atómica (EEA) se fundamenta en la medición de la intensidad de la radiación emitida por átomos excitados, es decir, por átomos cuyos electrones de valencia se encuentran en un estado electrónico excitado.

Por tanto, hay que atomizar la muestra, y además, excitarla. Se hace necesario una fuente de energía que realice las dos funciones:

- Debe proporcionar suficiente energía como para convertir los compuestos en átomos gaseosos.
- Debe proporcionar suficiente energía como para excitar los electrones de los átomos gaseosos.

Estos dos procesos se pueden realizar mediante una llama, un arco eléctrico, una chispa eléctrica o con fuentes de plasma (figura 10.2). De todas estas fuentes de energía, el plasma constituye el sistema más actual, y se ha convertido en el más importante y en el más ampliamente utilizado.

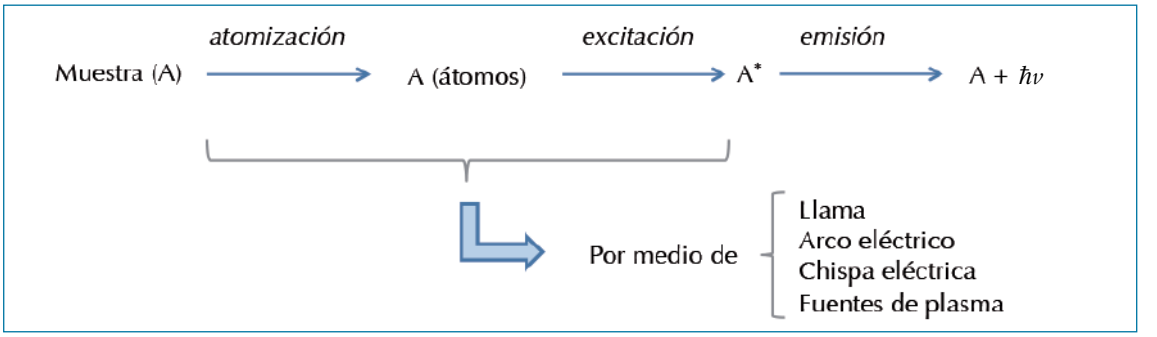


Figura 10.2
Procesos en espectroscopía de emisión atómica

Al igual que la técnica instrumental de absorción atómica, la espectroscopía de emisión atómica genera espectros de emisión constituidos por picos muy estrechos, debido a que los átomos no tienen estados de energía vibracional ni rotacional. Los espectros por tanto consisten en un número limitado de líneas separadas, que aparecen a las longitudes de onda correspondientes a la diferencia de energía entre dos orbitales atómicos. Cada elemento presenta un espectro característico, por lo que de su estudio se puede extraer información cualitativa. Además, hay que señalar una ventaja importante de la EEA: la posibilidad del análisis multielemental.

Por otro lado, la intensidad (I) de una línea de emisión es proporcional al número de átomos (N^*) que forman el estado excitado:

$$I = k \cdot N^*$$

k es una constante de proporcionalidad que depende de la especie analizada y de la longitud de onda a la cual se efectúa la lectura.

De esta relación se puede obtener información cuantitativa de la muestra analizada.

En principio, la técnica de emisión atómica puede utilizarse para todos los elementos, siempre

que se disponga de una fuente de excitación lo suficientemente energética. En la práctica, su empleo se limita a unos 70 elementos, ya que las líneas de emisión de algunos corresponden a la región del ultravioleta de vacío, la cual no es fácilmente accesible con la instrumentación que ordinariamente se utiliza.

10.2. Instrumentación

La instrumentación para la espectroscopía de absorción atómica y la de emisión atómica es similar, aunque hay una diferencia importante. En emisión atómica la fuente de la radiación son los átomos excitados presentes en la muestra. No es necesario el uso de ninguna fuente externa, como ocurre en absorción atómica. Muchos aparatos utilizados para absorción atómica también pueden ser empleados para emisión atómica, simplemente apagando la fuente de radiación. No obstante, también hay aparatos específicos para emisión atómica, diseñados para aprovechar las características peculiares de la técnica.

En la figura 10.3 se detallan las partes de un equipo de espectroscopía de emisión atómica:

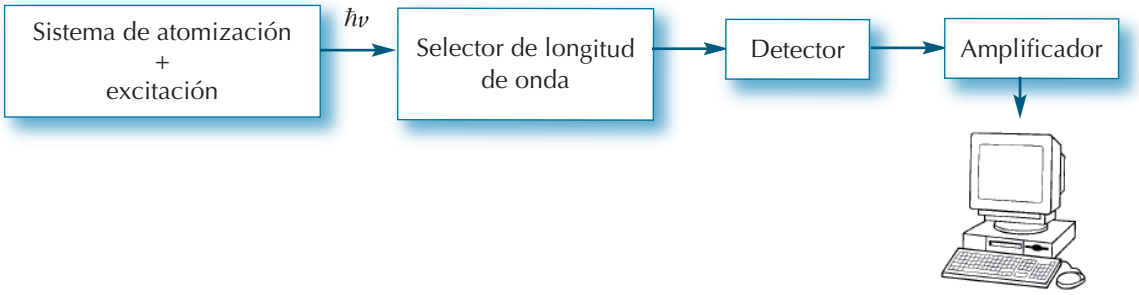


Figura 10.3
Partes de un equipo de espectroscopía de emisión atómica

En este capítulo se van a estudiar los sistemas de atomización y excitación. Para la comprensión del resto de partes del equipo, se pueden consultar los capítulos anteriores.

Las fuentes de atomización y excitación en emisión atómica idealmente deben reunir una serie de características:

1. Eliminación completa de la matriz original de la muestra con el fin de minimizar interferencias.
2. Atomización completa de los elementos que se van a analizar.
3. Excitación de los elementos objeto de análisis sin ionización apreciable.
4. Un medio químico inerte que impida la formación de especies moleculares no deseables.
5. No aportar radiación de fondo (*background*). La radiación de fondo es aquella emisión atómica o molecular no deseable que podría interferir con las longitudes de onda analíticas.
6. Ajustable a cualquier tipo de muestras.

7. Barata en su adquisición y mantenimiento.
8. Fácil de operar.

Según la fuente de atomización y excitación se configuran las diversas técnicas analíticas de espectroscopía de emisión, como se detalla en el cuadro 10.1.

CUADRO 10.1
Fuentes de atomización y excitación utilizadas en EEA

Fuente de atomización-excitación	Técnica analítica
Llama	Fotometría de llama
Arco o chispa eléctrica	Espectroscopía de emisión atómica con fuente de arco o chispa eléctrica
Plasma	Espectroscopía de emisión atómica con plasma

10.3. Fotometría de llama

En la técnica de emisión atómica de llama, denominada comúnmente fotometría de llama, se utiliza una llama como fuente de atomización y excitación. Los equipos suelen estar dotados del mismo conjunto de nebulización/cámara de aerosol/quemador que se usa en absorción atómica.

La muestra en disolución es nebulizada e introducida en la llama, donde es desolvatada, vaporizada y atomizada. Además, los átomos pasan a estados excitados. Cuando regresan a un estado energético más bajo, emiten radiación. Esta radiación pasa por un filtro o un monocromador que aísla la longitud de onda específica, según el elemento buscado. Un detector mide la potencia de la radiación que le llega, que es debidamente amplificada y enviada a un dispositivo de lectura (figura 10.4).

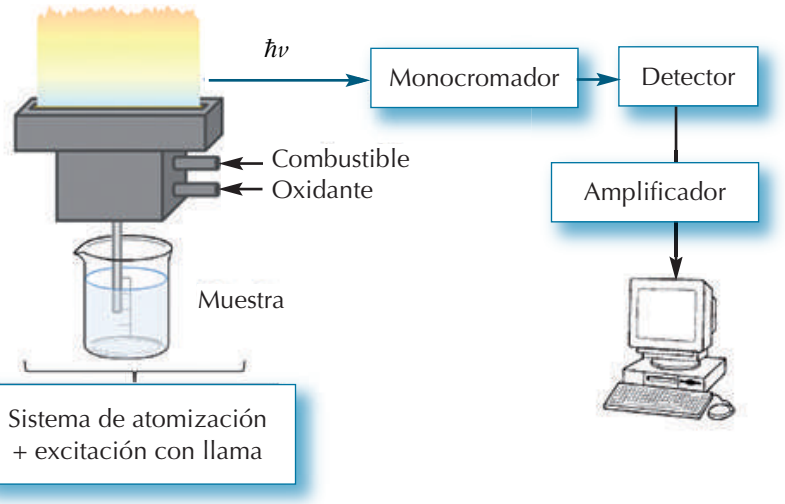
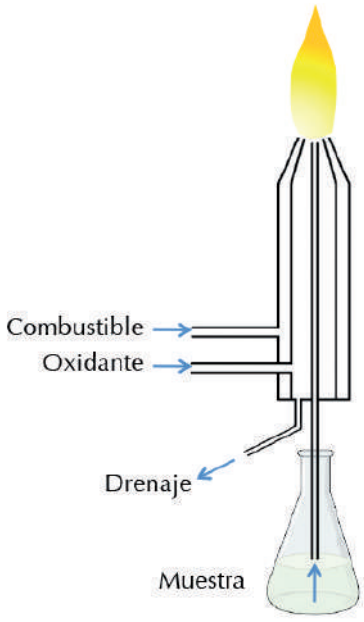


Figura 10.4
Partes principales de fotómetro de llama



El quemador que se utiliza en emisión atómica suele ser de flujo laminar, como el que se emplea en absorción atómica. Pero también, en los equipos más básicos, se usan quemadores de consumo total (figura 10.5). En estos quemadores tanto los gases (combustible y oxidante) como la muestra confluyen a la vez a la salida del mechero (en la base de la llama). Estos mecheros tienen la ventaja de introducir en la llama cantidades relativamente grandes y representativas de la muestra, pero tienen varios inconvenientes como un camino óptico relativamente corto, problemas de obstrucción, mucho ruido y señales inestables.

Figura 10.5
Quemador de consumo total

- *Características analíticas y aplicaciones*

La fotometría de llama es una técnica sencilla, que emplea equipos baratos y de fácil manejo (figura 10.6). La principal ventaja que tiene sobre la espectroscopía de absorción atómica es que no requiere fuente de radiación, además la calidad del selector de onda no tiene que ser tan alta, de hecho, muchos equipos llevan simplemente filtros.



Figura 10.6
Fotómetro de llama

La muestra objeto de análisis debe ser líquida, o estar en disolución.

Puede utilizarse para el análisis cualitativo de mezclas, llevando a cabo un barrido de las longitudes de onda de las radiaciones emitidas. Pero existen dos problemas: la energía relativamente baja de la llama, que permite excitar un número limitado de elementos, y, por otra parte, el ruido de fondo de la llama, que puede enmascarar alguno de los elementos presentes. Por ello sus aplicaciones cualitativas no son demasiado numerosas.

El análisis cuantitativo se basa en el uso de curvas de calibración. La zona lineal de calibrado en fotometría de llama suele ser pequeña. A concentraciones bajas, se pierde la linealidad debido al mayor grado de ionización en la llama, y a concentraciones altas debido a la autoabsorción (la radiación emitida por los átomos de la zona central de la llama es absorbida por los átomos de la zona más externa).

La técnica es muy empleada en la determinación de metales alcalinos, y también de calcio. Estos elementos pueden excitarse fácilmente a temperaturas relativamente bajas, para dar espectros sencillos, compuestos de pocas líneas intensas. Debido a esta simplicidad espectral, se puede usar un filtro sencillo a la salida de la llama. Y, como no son necesarias altas temperaturas, las mezclas butano/aire o propano/aire resultan adecuadas como gases de combustión.

En cuanto a aplicaciones concretas, se utiliza en análisis clínicos (para la determinación de sodio, potasio y calcio), en análisis de suelos y de otros materiales, como aguas, cementos y productos petrolíferos.

PARA SABER MÁS

Determinación de varios elementos conjuntamente

Se han desarrollado instrumentos para la determinación conjunta de varios elementos en la llama. En ellos, los monocromadores están controlados por un ordenador que permite la medida rápida y secuencial de la radiación emitida a diferentes longitudes de onda, pudiéndose determinar la concentración de hasta 10 elementos por minuto.

Existen también equipos diseñados especialmente para el análisis de litio, sodio y potasio en muestras biológicas. La radiación procedente de la llama se escinde en tres haces, cada uno de los cuales pasa por un filtro, un detector y un amplificador.

10.4. Espectroscopía de emisión atómica con fuente de chispa y/o arco eléctrico

En las fuentes de chispa y arco, la excitación de la muestra se produce en el pequeño espacio existente entre un par de electrodos. Uno de los electrodos normalmente contiene la muestra. El paso de electricidad entre dichos electrodos proporciona la energía necesaria para producir átomos e iones en estado electrónico excitado.

Las fuentes de arco eléctrico constan de un par de electrodos, uno de los cuales soporta la muestra, mientras que el otro actúa como contraelectrodo. Se inicia el arco con una chispa

de baja intensidad, que origina la formación de los iones necesarios para el paso de corriente entre los dos electrodos. Iniciado el arco, se mantiene el flujo de corriente por ionización térmica; la resistencia de iones y electrones a este movimiento origina temperaturas por encima de 4.000 K. Los átomos e iones excitados térmicamente tenderán a regresar a su estado basal emitiendo radiación.

En la excitación por chispa, se forma una chispa eléctrica al aplicar un voltaje muy elevado en corriente continua entre un par de electrodos que contienen la muestra. Cada cierto tiempo, se produce una serie de descargas o chispas. Este sistema aporta energías de excitación mucho más altas que el arco, con menor efecto de calentamiento.

- *Características analíticas y aplicaciones*

Los sistemas de arco de corriente continua son especialmente adecuados para el análisis cualitativo. Con las temperaturas que se alcanzan, el método resulta apropiado para casi todos los elementos. El tiempo requerido para el análisis es inferior a una hora, y únicamente se necesitan unos pocos miligramos de muestra. Sin embargo, la reproducibilidad es pequeña, a menos que la muestra sea muy homogénea.

Los sistemas de arco de corriente alterna no se utilizan mucho en la práctica, ya que, aunque aportan más reproducibilidad con respecto al arco de corriente continua, la sensibilidad es menor.

Las fuentes de chispa no son muy sensibles, y por ello no son demasiado convenientes para el análisis cualitativo. Sin embargo, sí son estables y reproducibles, por lo que están más indicadas para el análisis cuantitativo.

La muestra, tanto en fuentes de arco como de chispa, puede ser sólida o líquida. Las muestras sólidas conductoras suelen tornearse y usarse como electrodo directamente; si no son conductoras, se trituran, se mezclan con grafito (u otra sustancia conductora y compresible) y se comprimen a alta presión para formar el electrodo; también se puede depositar la muestra finamente pulverizada en electrodos cilíndricos que disponen de un pequeño orificio para ello. El contraelectrodo generalmente es de grafito.

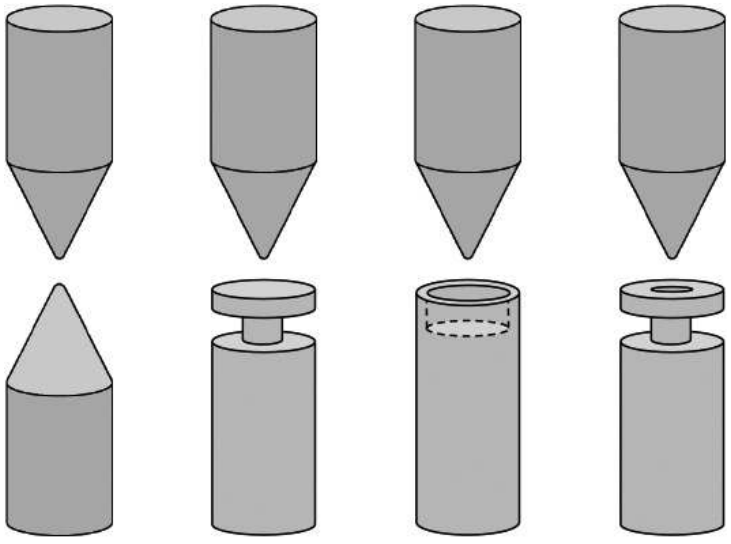


Figura 10.7
Formas habituales de electrodos (parte inferior) y contraelectrodos (parte superior)

Cuando se trata de muestras líquidas o disoluciones, lo normal es evaporar una determinada cantidad depositada sobre un electrodo.

Actualmente las técnicas con fuente de arco o de chispa se aplican principalmente al análisis elemental de muestras sólidas, sobre todo en la industria de metales. Las muestras líquidas y gaseosas se manipulan mucho mejor por espectrometría de emisión de plasma. En general, las fuentes de plasma están desplazándolas, y es probable que continúe esta tendencia.

10.5. Espectroscopía de emisión atómica con fuente de plasma

Un plasma es un gas caliente y parcialmente ionizado, eléctricamente neutro, con una concentración significativa de cationes y electrones que lo convierten en un conductor. Los plasmas utilizados en emisión atómica están formados normalmente por un flujo de argón que produce iones Ar^+ y electrones. Las elevadas temperaturas del plasma se alcanzan por el calor de resistencia desarrollado por el movimiento de los electrones y los iones de argón.

Existen tres tipos de plasma: (A) plasma de acoplamiento inductivo (ICP), (B) plasma de corriente continua (DCP) y (C) plasma inducido por microondas (MIP).

A) Plasma de acoplamiento inductivo (ICP)

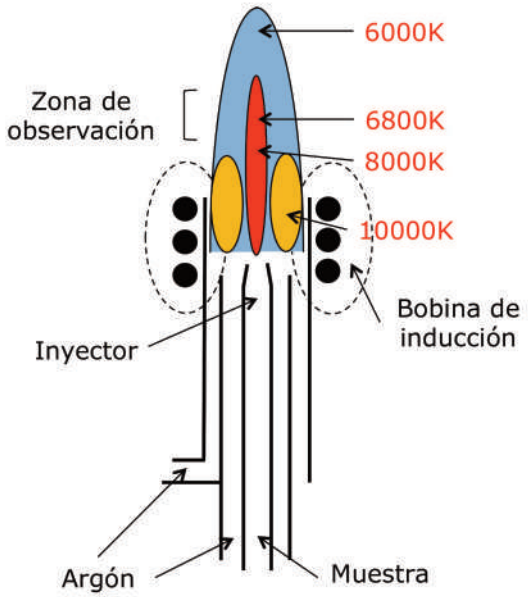


Figura 10.8
Fuente de plasma de acoplamiento inductivo

La fuente de plasma de acoplamiento inductivo es la de uso más extendido. Consta de tres tubos concéntricos de cuarzo, que constituyen la denominada antorcha, que es la pieza clave en un equipo de plasma. A través de los tubos fluyen corrientes de argón (gas plasmógeno). Rodeando al tubo exterior por la parte superior se encuentra una bobina de inducción, refrigerada por agua y alimentada por un generador de radiofrecuencia. En principio es necesario iniciar la ionización del argón utilizando una chispa que proviene de una bobina Tesla. Los iones y electrones resultantes interaccionan con el campo magnético oscilante producido por la bobina de inducción. Esta interacción hace que los iones y electrones se muevan en trayectorias circulares de sentido opuesto. Como consecuencia de la resistencia que oponen a este movimiento se produce el calentamiento. En el extremo de la antorcha aparece una especie de "llama" que se observa durante todo el proceso (figura 10.8).

Dada la alta temperatura alcanzada por el plasma (se alcanzan temperaturas de hasta 10.000 K), se hace necesario el aislamiento térmico del tubo exterior de cuarzo. Para ello se hace fluir argón de forma tangencial alrededor de las paredes del cilindro.

Las muestras se introducen dentro de la antorcha mediante un flujo de argón a través del tubo central (inyector), hasta el interior de la "llama" originada por el plasma. Para introducir la muestra se puede utilizar cualquiera de los métodos vistos en la técnica de absorción atómica (capítulo 9). El dispositivo más utilizado consiste en la formación de aerosoles, generados a partir de disoluciones de la muestra, con técnicas de nebulización; para hacer llegar la muestra hasta la "llama" se emplea una bomba peristáltica.

En el plasma de argón existen las siguientes especies:

- Electrones libres (e^-).
- Iones argón (Ar^+).
- Átomos de argón excitados (Ar^*).
- Átomos de argón en estado fundamental (Ar^0).
- Moléculas de argón ionizadas (Ar_2^+), excitadas (Ar_2^*) y neutras (Ar_2^0).

Entre todas estas especies es normal que se produzcan procesos de recombinación radiante. Estos procesos explican el hecho de que el plasma aparente ser una llama, cuando en realidad no lo es, ya que no existe ningún proceso de combustión química convencional en el proceso de generación.

Las tres primeras especies indicadas son capaces de ceder su energía a los átomos de los elementos de la muestra introducida en el plasma. Estas energías son suficientes para excitar a la mayoría de los elementos del sistema periódico. También se produce ionización, pero este problema está minimizado debido al efecto tampón de los electrones procedente de la ionización del argón.

Los átomos excitados emiten radiaciones, características para cada elemento. Del análisis de estas radiaciones se obtendrán resultados cualitativos y cuantitativos.

PARA SABER MÁS

Antorcha

Del diseño de la antorcha van a depender gran parte de las características del equipo, ya que condiciona no sólo el tiempo de permanencia de la muestra en la llama, que es la zona de excitación, sino que también su configuración determina el mantenimiento del equilibrio en el seno del plasma. Esto hace que, para mejorar la técnica ICP, las investigaciones estén encauzadas fundamentalmente hacia nuevos tipos de antorcha con el fin de optimizar el sistema.

La antorcha puede ser *monobloc,* con tres tubos soldados formando una unidad, o bien *desmontable,* con tubos independientes, lo que permite utilizar diferentes inyectores: Resistentes a la corrosión, generalmente hechos de material cerámico, para muestras ácidas; inyectores con orificios estrechos para analizar disolventes orgánicos; inyectores con agujeros anchos para introducir muestras con alto contenido de sólidos, etc.

No obstante, las desmontables son en la práctica difíciles de reconstruir, y, generalmente, se utilizan las que son parcialmente desmontables.

Con el uso, se van produciendo cambios físicos y químicos en la antorcha, y acaba por degradarse, siendo necesaria su sustitución.

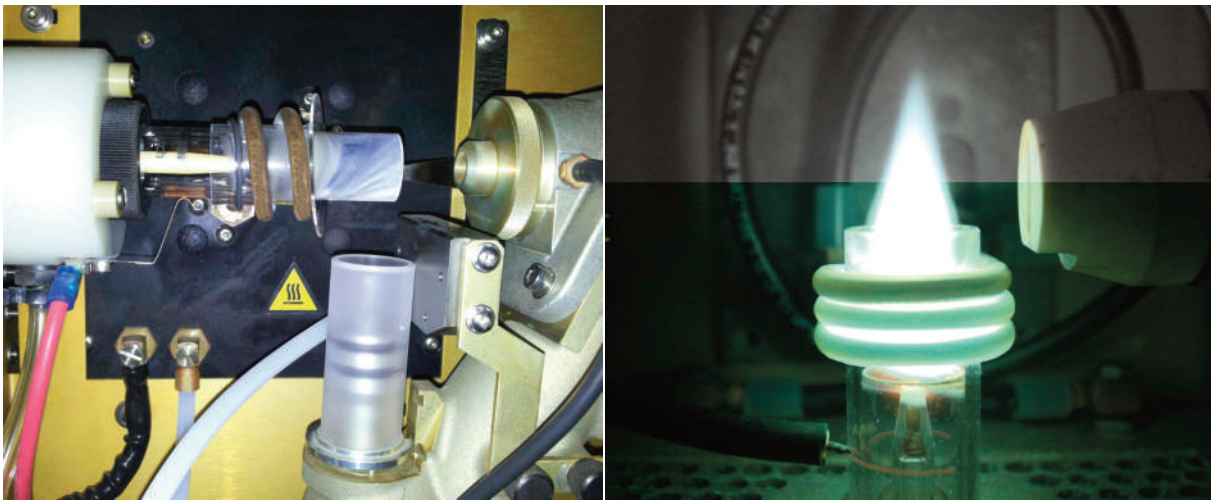


Figura 10.9
Interior de un equipo de ICP (izqda.) y antorcha encendida de plasma (dcha.)

- *Características analíticas y aplicaciones*

La fuente ICP proporciona una gran calidad en el análisis multielemental. Este puede llevarse a cabo de dos formas, secuencial o simultáneamente. En la forma secuencial, la radiación emitida por la muestra en el plasma se focaliza sobre la rendija de entrada del monocromador y se barre el espectro en la región de interés. La determinación simultánea, menos frecuente, puede realizarse con un espectrómetro provisto de varios tubos fotomultiplicadores individuales, a cada uno de los cuales llega una señal de diferente longitud de onda. Las señales eléctricas son amplificadas, procesadas y almacenadas en un ordenador.

Al tratarse de una fuente muy energética los espectros pueden tener un gran número de líneas, por lo que se requieren monocromadores con alta capacidad de resolución.

En los instrumentos más modernos de EEA-ICP se pueden encontrar detectores de transferencia de carga, ya descritos en el capítulo 7, constituidos por una matriz bidimensional de elementos electrónicos que actúan como detectores individuales. Estos instrumentos disponen de monocromadores más complejos, que dispersan la radiación en dos planos perpendiculares; de esta forma cada longitud de onda se dirige a un punto concreto del detector de transferencia de carga.

La muestra puede ser introducida en el plasma en forma gaseosa, líquida o incluso como un sólido finamente dividido, pero casi siempre se usan dispositivos semejantes a los utilizados en los métodos de llama.

Las características analíticas de esta técnica en comparación con las otras fuentes de atomización vistas son:

- Los límites de detección para muchos elementos son mejores.
- Produce una atomización muy completa, dando lugar a menos problemas de interferencias químicas, dada la mayor temperatura alcanzada, y también por el mayor tiempo de resi-

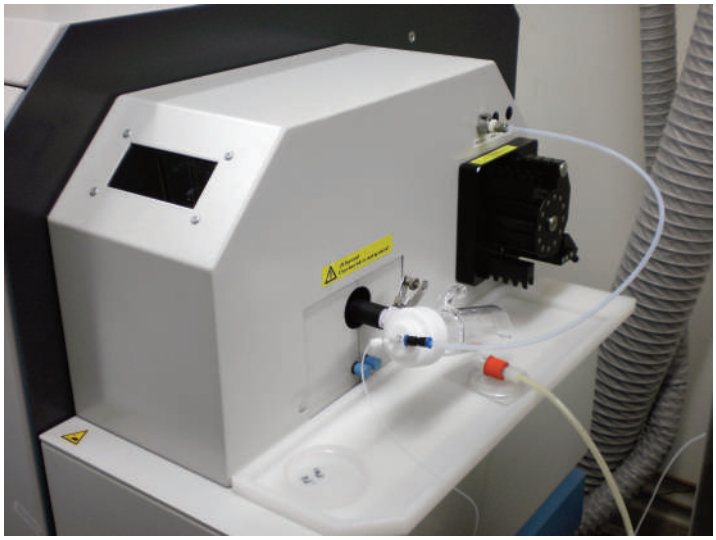


Figura 10.10
Ejemplo de sistema de introducción de la muestra en ICP

dencia del analito en la antorcha. También hay menos interferencias de ionización, como se ha dicho, por el efecto tampón de los electrones procedentes del argón.

– La estabilidad también es mayor con respecto a las fuentes anteriormente vistas, por lo que no es necesario un recalibrado frecuente. Además, como la temperatura en la secciones transversales es relativamente uniforme, no se producen efectos de autoabsorción y autoinversión, por lo que el margen de linealidad de las curvas de calibrado es amplio.

Como inconvenientes de la utilización de la fuente de ICP cabe resaltar el alto consumo de argón, el alto coste de mantenimiento y la necesidad de personal cualificado.

Con respecto a la técnica de absorción atómica, el ICP ofrece la posibilidad de analizar de manera simultánea todos los elementos presentes en la muestra, y no es necesario el uso de lámparas, pero necesita un volumen mayor de muestra y posee una menor sensibilidad.

La técnica presenta una gran variedad de aplicaciones. Sus campos de aplicación son medioambiente, alimentación, clínico, químico, farmacéutico, investigación, etc.

PARA SABER MÁS

ICP acoplado a otras técnicas

Además de la utilización del ICP como fuente de excitación en emisión atómica, es posible emplearlo acoplado a otras técnicas:

Uso en fluorescencia atómica. En este caso existen dos posibilidades: usar la emisión procedente del ICP como fuente de excitación fluorescente, o aprovechar las excelentes propiedades del ICP para vaporizar y atomizar la muestra.

Uso en espectrometría de masas (ICP-MS). Se utiliza la capacidad de un plasma ICP para atomizar y generar eficazmente iones monocargados de los elementos contenidos en la muestra. Estos iones se introducen directamente en el espectrómetro de masas, que separará dichos iones en función de su relación masa/carga (figura 10.11).

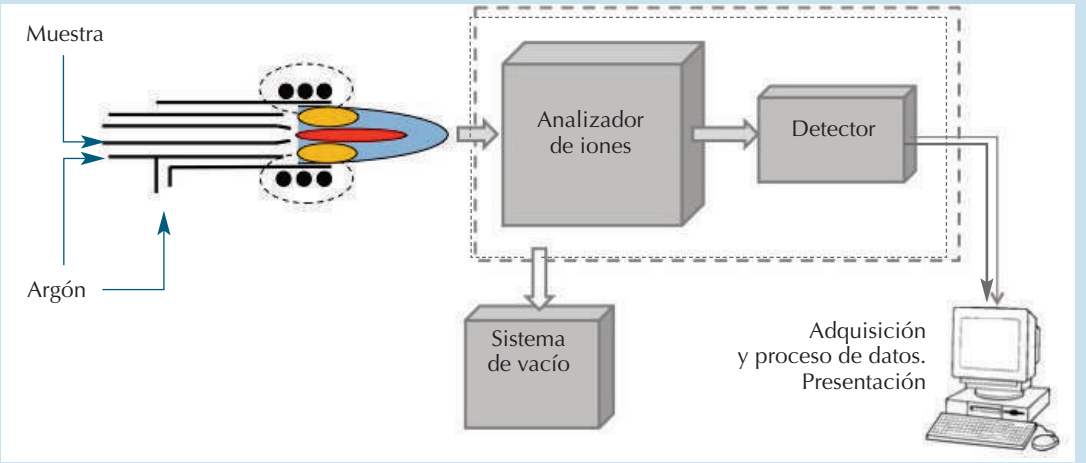


Figura 10.11
Esquema de un sistema ICP-espectrómetro de masas

Uso en cromatografía líquida. En este caso el ICP se emplea como sistema de detección.

B) Fuente de plasma de corriente continua

Esta fuente de plasma consiste en tres electrodos dispuestos en una configuración de Y invertida. Un ánodo de grafito se localiza en cada brazo de la Y, y un cátodo de wolframio en la base invertida.

El argón fluye desde los dos bloques anódicos hacia el cátodo. El chorro de plasma se forma al contactar momentáneamente el cátodo con los ánodos. Se ioniza el argón y se desarrolla una corriente que genera iones adicionales que mantienen la corriente indefinidamente. La muestra se aspira dentro del área entre los dos brazos de la Y, donde se atomiza, excita y analiza.

Está técnica necesita menos argón, y la fuente de alimentación auxiliar es más sen-

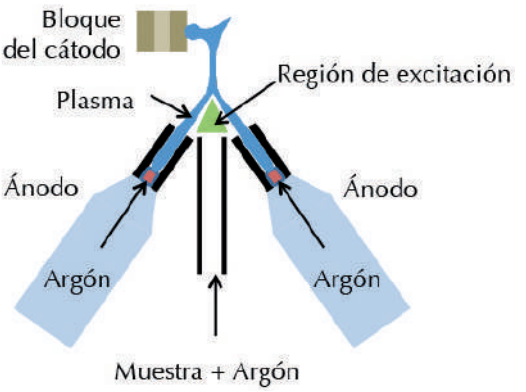


Figura 10.12
Fuente de plasma de corriente continua

cilla y barata que la fuente de plasma de acoplamiento inductivo. Como inconveniente se tiene que los electrodos deben sustituirse a las pocas horas de uso, mientras que la fuente de plasma de acoplamiento inductivo requiere muy poco mantenimiento.

C) Fuente de plasma inducido por microondas

Los plasmas inducidos por microondas han suscitado un gran interés en los últimos años como fuentes de excitación en espectrometría de emisión atómica, existiendo ya espectrómetros en el mercado que disponen de ellos. Ofrecen muy buena sensibilidad analítica para un amplio rango de elementos, particularmente no metales tales como los halógenos. No obstante, debido a la baja capacidad que presentan para la desolvatación de disoluciones, la introducción de la muestra debe realizarse en forma de vapor.

Otras ventajas que presenta esta fuente de plasma son:

- Coste operativo bajo, ya que no necesita el suministro de gases de precio elevado.
- Proporciona unos límites de detección óptimos en comparación con los espectrómetros de absorción atómica de llama.
- Facilidad de uso. Los aparatos vienen con un *software* intuitivo que permite una configuración rápida, no requiriendo de personal excesivamente cualificado.
- Aumento de la seguridad en el laboratorio, porque se suprime el uso de gases peligrosos, así como su manipulación y almacenamiento.

PARA SABER MÁS

Otra fuente de atomización-excitación: microsonda láser

Se puede utilizar un láser para vaporizar y atomizar la muestra en el espacio entre dos electrodos de grafito, que se utilizan como fuente de excitación de chispa. El dispositivo permite analizar materiales no conductores y posiblemente la mayor ventaja sea el poder enfocar sobre determinadas zonas de tamaño muy pequeño, entre 10 y 50 μm de diámetro.

Además, el láser se puede utilizar como fuente de excitación: si tiene potencia suficiente, tras la atomización puede inducir la excitación de los átomos e iones formados y la consiguiente emisión de radiación.

Resumen

La espectroscopía de emisión atómica (EEA) se fundamenta en la medición de la intensidad de la radiación emitida por átomos excitados. En primera instancia, hay que atomizar la muestra, y a continuación excitarla. Estos dos procesos se pueden realizar mediante una llama, un arco eléctrico, una chispa eléctrica o una fuente de plasma. De todas estas fuentes de energía, el plasma constituye el sistema más actual, y ha pasado a ser el más importante y el más ampliamente utilizado.

El uso de la llama constituye la denominada fotometría de llama, y es muy utilizada para aplicaciones muy concretas, como la determinación de metales alcalinos y calcio.

De entre las fuentes de plasma, la de uso más extendido es la fuente por acoplamiento inductivo (ICP), pero la fuente de plasma inducido por microondas, de reciente implantación, se está constituyendo como una alternativa con altas prestaciones.

Práctica n.º 13

Determinación de sodio en aguas por fotometría de llama

Objetivos	• Determinar la concentración de sodio en aguas por fotometría de llama. • Aprender a manejar un fotómetro de llama.
Procedimiento	1. Preparación de patrones. Preparar matraces de 50 mL con disoluciones de 5, 10, 15 y 20 mg/L de sodio, a partir de una disolución madre de 500 mg/L de sodio. 2. Seleccionar en el aparato el filtro de sodio o la longitud de onda de 589,0 nm. 3. Con agua destilada o desionizada, ajustar el cero. Con el patrón de mayor concentración ajustar el 100. 4. Realizar las lecturas de todos los patrones y de la muestra. Si es necesario, diluir la muestra previamente. Determinar la curva de calibración, y calcular la concentración de sodio en la muestra.



Ejercicios propuestos

1. Se va a analizar sodio por fotometría de llama en una muestra. Se pesan 1,2456 g de la muestra, se disuelven y se llevan a 100 mL en un matraz aforado. Empleando la línea de emisión del Na, en un fotómetro de llama, se miden una serie de patrones de Na previamente preparados y la disolución de la muestra, obteniéndose las lecturas de emisión que aparecen en la tabla siguiente:

Concentración de Na (mg/L)	Lectura de emisión
0,5	24
1,0	49
2,0	100
3,0	144
4,0	190
Muestra	32

Determina el porcentaje de sodio en la muestra.

2. Se preparan una serie de patrones de K para preparar una curva de calibración y ser usada en la determinación de K en varias muestras. Tras medir la intensidad de radiación de dichos patrones con un fotómetro de llama, se obtuvieron los siguientes resultados:

Concentración de K (mg/L)	Intensidad de la radiación
0,1	4,1
0,2	8,0
0,4	16,2
0,6	24,5
0,8	31,8
1,0	36,0
1,2	48,5

a) Representa los datos en un gráfico, obteniendo la ecuación de la recta.

b) A la vista de la gráfica, observa si alguno de los resultados puede ser erróneo. En ese caso, elimina y calcula nuevamente la ecuación de la recta.

c) Las muestras A y B, tras ser analizadas en las mismas condiciones que los patrones, ofrecieron una intensidad de 23,0 y 38,5, respectivamente. Determina la concentración de K presente en las mismas.

3. En el análisis de metales en muestras de aguas por fotometría de llama, cuando estos se encuentren en muy pequeña concentración, se hace del todo necesario utilizar en la preparación de patrones y de la muestra material totalmente libre de trazas de dichos elementos. Busca un procedimiento adecuado para la limpieza del material en el análisis de trazas.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. ¿Cuál de las siguientes opciones no se utiliza en ningún caso en un análisis por emisión atómica?:
   - ☐ *a)* Fuente de radiación de cátodo hueco.
   - ☐ *b)* Llama.
   - ☐ *c)* Arco eléctrico.

2. Se tienen varias fuentes de excitación y atomización en emisión atómica. Indica la que tiene mejores características analíticas:
   - ☐ *a)* Chispa eléctrica.
   - ☐ *b)* Llama.
   - ☐ *c)* Plasma.

3. Un plasma en el contexto de análisis instrumental es:
   - ☐ *a)* El producto de la combustión del argón.
   - ☐ *b)* Un gas caliente y parcialmente ionizado, conductor.
   - ☐ *c)* La mezcla de una muestra con un gas inerte.

4. La pieza clave de un equipo de plasma:
   - ☐ *a)* Son los electrodos.
   - ☐ *b)* Es la antorcha.
   - ☐ *c)* Es la fuente de radiación.

5. Las siglas ICP-MS corresponden a las siguientes técnicas acopladas:
   - ☐ *a)* Espectrometría de masas y plasma de acoplamiento inducido.
   - ☐ *b)* Plasma de acoplamiento inducido y fotometría de llama.
   - ☐ *c)* Plasma de acoplamiento inducido y espectrometría de infrarrojo.

SOLUCIONES:

1. **a** b c
2. a b **c**
3. a **b** c
4. a **b** c
5. **a** b c

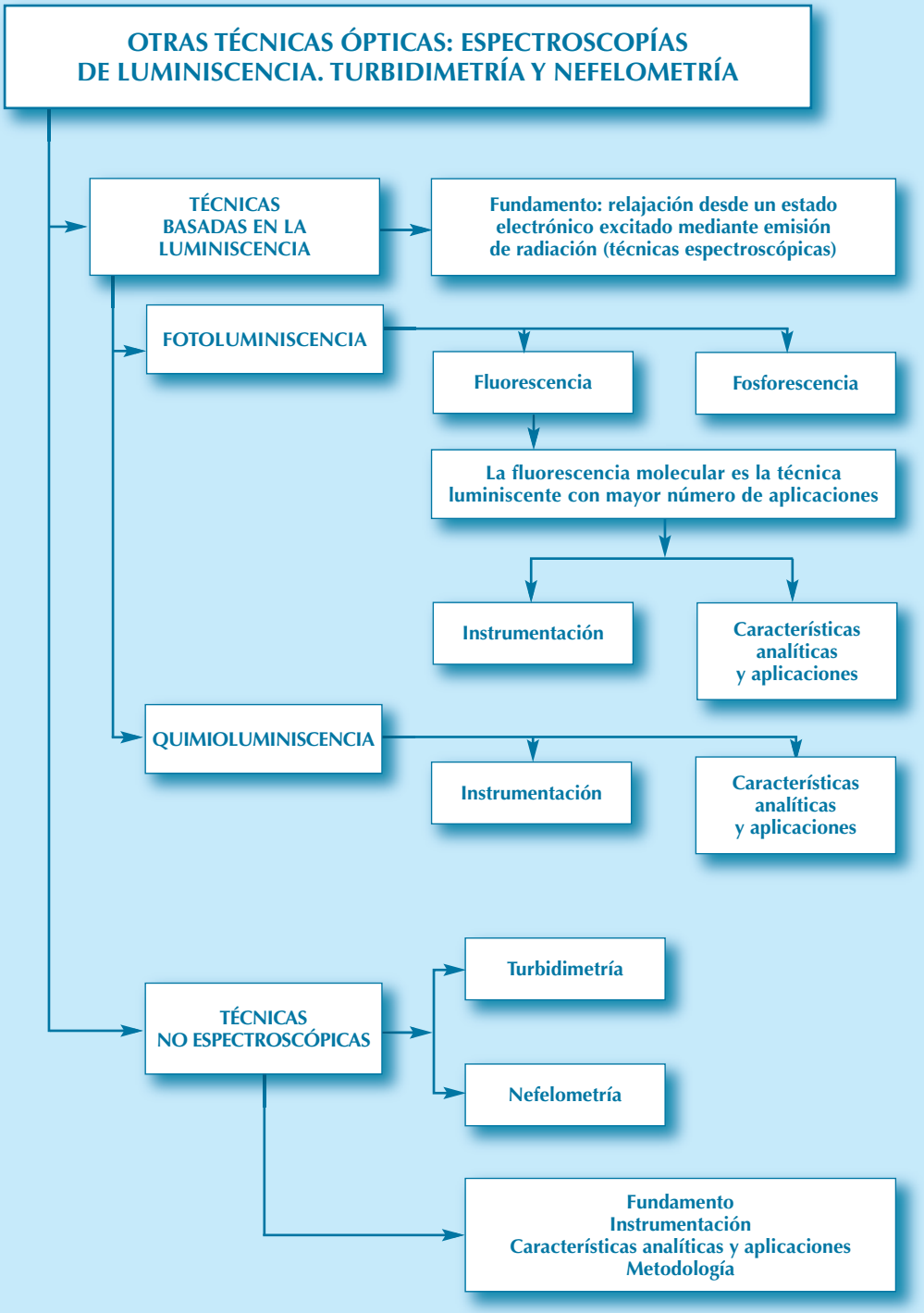
11

Otras técnicas ópticas: espectroscopías de luminiscencia. Turbidimetría y nefelometría

Objetivos

1. Estudiar los fundamentos básicos de las técnicas instrumentales basadas en la medida de la emisión luminiscente: fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia.
2. Distinguir los distintos módulos instrumentales que componen un espectrofluorímetro y un analizador de quimioluminiscencia.
3. Comprender los fundamentos básicos de las técnicas basadas en la medida de la radiación dispersada: turbidimetría y nefelometría.
4. Conocer los componentes de un turbidímetro y de un nefelómetro, así como su manejo.
5. Aprender a manejar un turbidímetro y un nefelómetro, conociendo las variables experimentales que se han de tener en cuenta.

Mapa conceptual del capítulo



Glosario

Aire sintético. Mezcla de oxígeno (21%) y nitrógeno (79%) de alta pureza que se suministra como gas no licuado a alta presión en cilindros de acero.

Complejo de coordinación. Compuesto químico formado por un ion metálico central al que se enlazan otros grupos (moléculas o iones), denominados ligandos, mediante un enlace covalente coordinado, en el que el par de electrones del enlace es aportado por el ligando.

Cromóforo. Conjunto de átomos o grupo funcional de una molécula con la capacidad de absorber radiación visible y responsable por tanto del color de dicho compuesto. Por extensión también se refiere a los grupos que absorben en la región UV.

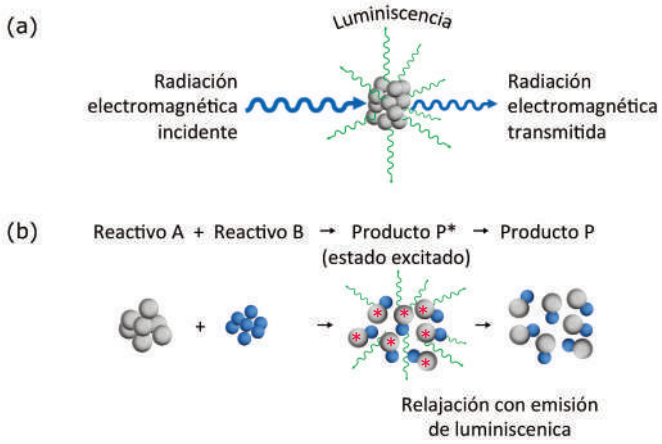
Desactivación. Proceso por el que una especie química pasa de un estado excitado a otro de menor energía con o sin emisión de radiación.

Coloide. Es una suspensión de partículas con un tamaño medio generalmente comprendido entre 10 y 100 nm.

Turbidez. Reducción de la transparencia de un líquido causada por la presencia de partículas en suspensión o dispersión.

11.1. Técnicas luminiscentes

Se conoce como luminiscencia el proceso de emisión de radiación por parte de una especie química como consecuencia de la desactivación de la misma desde un estado energético excitado. En función de cómo se consigue esta excitación previa a la emisión de luminiscencia se pueden distinguir varios fenómenos:



- *Fotoluminiscencia:* la excitación se consigue mediante la absorción de radiación electromagnética (figura 11.1.a). Las transiciones energéticas involucradas tienen lugar en el nivel electrónico, con lo que se puede dar tanto en átomos como en moléculas.
- *Quimioluminiscencia:* la emisión luminiscente proviene de una especie excitada energéticamente que se produce en una reacción química (figura 11.1.b).

Figura 11.1
(a) Esquema de un fenómeno de fotoluminiscencia
(b) Esquema de un fenómeno de quimioluminiscencia

11.1.1. Fluorescencia

A) Fundamento

Dentro de la fotoluminiscencia se pueden distinguir dos fenómenos diferentes: la fluorescencia y la fosforescencia. En ambos casos el proceso comienza con la excitación de una especie química desde el estado electrónico fundamental a algún estado electrónico excitado, mediante la absorción de radiación. En el caso de que se trate de una especie molecular los estados electrónicos englobarán varios estados del nivel vibracional, como se representa en la figura 11.2. Aunque también se puede producir emisión de fotoluminiscencia en el caso de especies atómicas, las técnicas analíticas basadas en este fenómeno, como la fluorescencia atómica, presentan relativamente pocas aplicaciones ya que no suele mejorar las prestaciones de otras técnicas espectroscópicas atómicas de absorción o emisión. En lo que sigue solo se tratará el fenómeno de la fotoluminiscencia molecular.

La excitación de una especie química puede llevar a un estado excitado simple, o singlete, en el que el electrón excitado conserva su espín, o a un estado excitado triple, o triplete, en el que el espín del electrón excitado no se conserva. Las transiciones hasta estados simples son mucho más probables que las que llevan a estados triples.

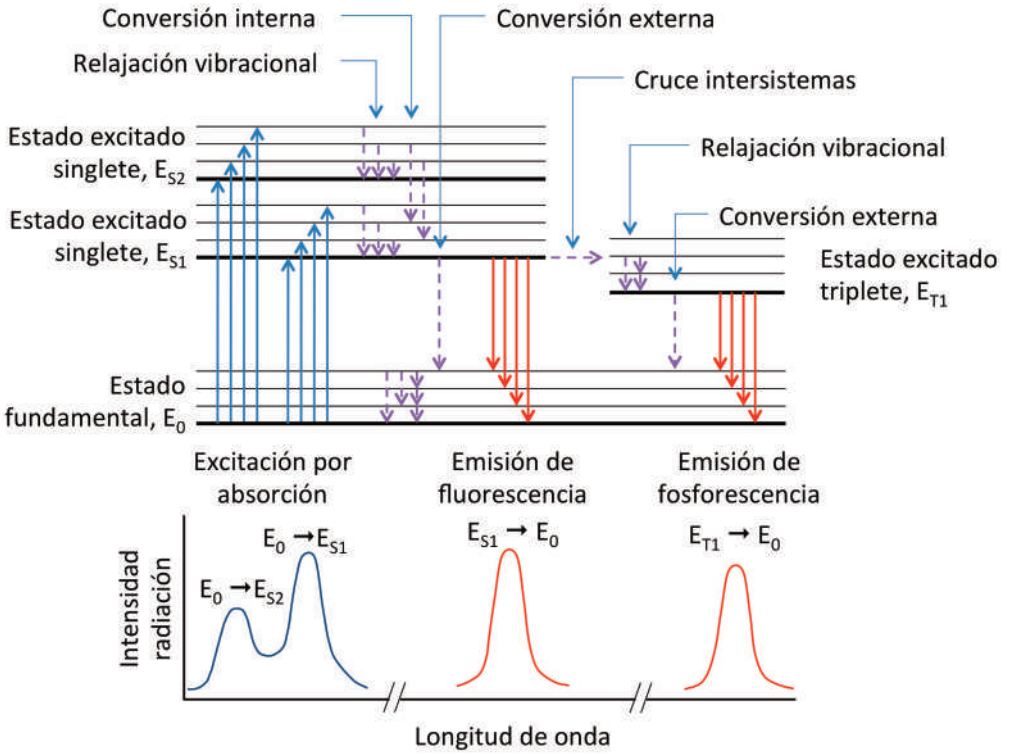


Figura 11.2
Esquema de las diferentes transiciones energéticas involucradas en los procesos de fotoluminiscencia (en línea discontinua los procesos que no implican emisión de radiación)

Una vez en un estado excitado simple, la molécula puede desactivarse sin emisión de radiación, mediante varios procesos diferentes (figura 11.2):

- *Relajación vibracional:* desde estados vibracionales excitados hasta el nivel vibracional fundamental del estado electrónico excitado.
- *Conversión interna:* desde estados electrónicos excitados singletes a otros de menor energía, incluso hasta el estado fundamental.
- *Conversión externa:* la desactivación se produce mediante la interacción entre las moléculas excitadas y el disolvente u otros solutos presentes.
- *Cruce intersistemas:* transición entre un estado singlete y otro triplete que puede darse cuando ambos estados están próximos energéticamente. Una vez en el estado triple las moléculas pueden perder energía mediante relajación vibracional y conversión externa.

Por otro lado, se puede producir desactivación mediante procesos de emisión de radiación, que son la fluorescencia (transición desde un estado excitado singlete al estado fundamental) y la fosforescencia (transición desde un estado excitado triplete al estado fundamental).

La relajación o desactivación de una molécula desde un estado excitado hasta el fundamental se puede realizar mediante una combinación de procesos no radiantes exclusivamente, o bien combinando procesos no radiantes y procesos radiantes. La ruta que se siga en cada caso será aquella que minimice el tiempo de permanencia en el estado excitado.

La fluorescencia se produce cuando la desactivación mediante emisión de radiación desde el primer estado excitado es más rápida que los procesos no radiantes. La energía asociada a esta emisión es menor que la correspondiente a la excitación, por lo que en un espectro de fluorescencia, además de aparecer una sola banda, está situada a una longitud de onda mayor que las bandas de excitación, correspondiendo a una menor frecuencia y por tanto menor energía. Esta diferencia entre las longitudes de onda de excitación y de emisión se conoce como *desplazamiento de Stokes.*

La fosforescencia se produce cuando la desactivación mediante emisión de radiación desde el estado excitado triplete está favorecida frente a la desactivación mediante otros procesos no radiantes.

La emisión de fosforescencia es mucho menos probable que otros procesos de desactivación, por lo que solo se observa en determinadas especies químicas y en condiciones especiales. Asimismo la emisión de fosforescencia es de menor intensidad que la de fluorescencia, lo que limita la sensibilidad y la precisión de los métodos basados en la fosforescencia. Estos métodos requieren además la aplicación de condiciones especiales (baja temperatura o medios altamente viscosos), para favorecer la emisión de fosforescencia frente a otros procesos de desactivación. Por este motivo la fosforescencia tiene menos aplicaciones analíticas que la fluorescencia. Este capítulo se centrará en la espectroscopía de fluorescencia molecular.

La emisión fluorescente observada en una determinada especie química está condicionada por su propia estructura molecular (presencia de grupos cromóforos emisores de fluorescencia o fluoróforos, rigidez en la estructura, formación de complejos de coordinación de una molécula orgánica con un ion metálico, etc.), así como por otros factores dependientes del medio en que se trabaje (disolvente, pH, oxígeno disuelto, temperatura, etc.).

En una disolución diluida se verifica que la intensidad de fluorescencia es directamente proporcional a la concentración de la especie fluorescente (figura 11.3):

$$I_{fluorescencia} = K \cdot c$$

donde K recoge la influencia de varios parámetros: absorbancia específica del analito, rendimiento cuántico del sistema (relación entre el número de fotones emitidos y absorbidos), longitud del paso óptico, características del instrumento, e intensidad incidente. Cuanto mayor es la intensidad de la fuente, más moléculas pasarán del estado fundamental al estado excitado por lo que la señal de fluorescencia será mayor, dando lugar así a una sensibilidad más alta.

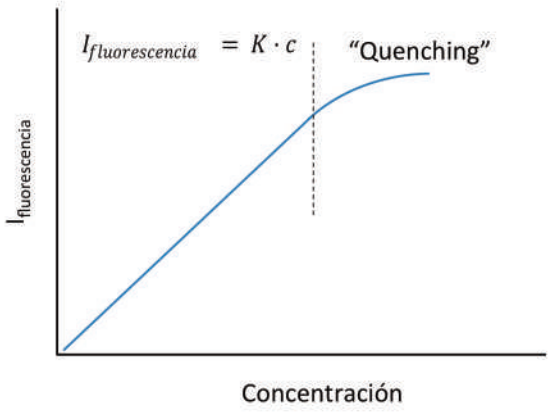


Figura 11.3
Relación intensidad de fluorescencia – concentración y fenómeno de "quenching"

A altas concentraciones la relación no es lineal, originando el fenómeno denominado "*quenching*" o amortiguamiento, en el que tiene lugar la transferencia de energía no radiante de las moléculas excitadas a otras moléculas.

B) Instrumentación

La figura 11.4 muestra el esquema de un espectrofluorómetro de haz doble (también es habitual el empleo de los términos "espectrofluorímetro" y "fluorimetría" para referirse a esta técnica). Los componentes del instrumento son similares a los de un espectrofotómetro de absorción UV-vis.:

- Como fuente de radiación es habitual emplear lámparas de alta intensidad de emisión, como las de arco de Xe (espectro continuo), o de arco de Hg (espectro de líneas). Se suele utilizar como radiación de excitación luz UV, por lo que la emisión de fluorescencia suele situarse en el espectro visible.

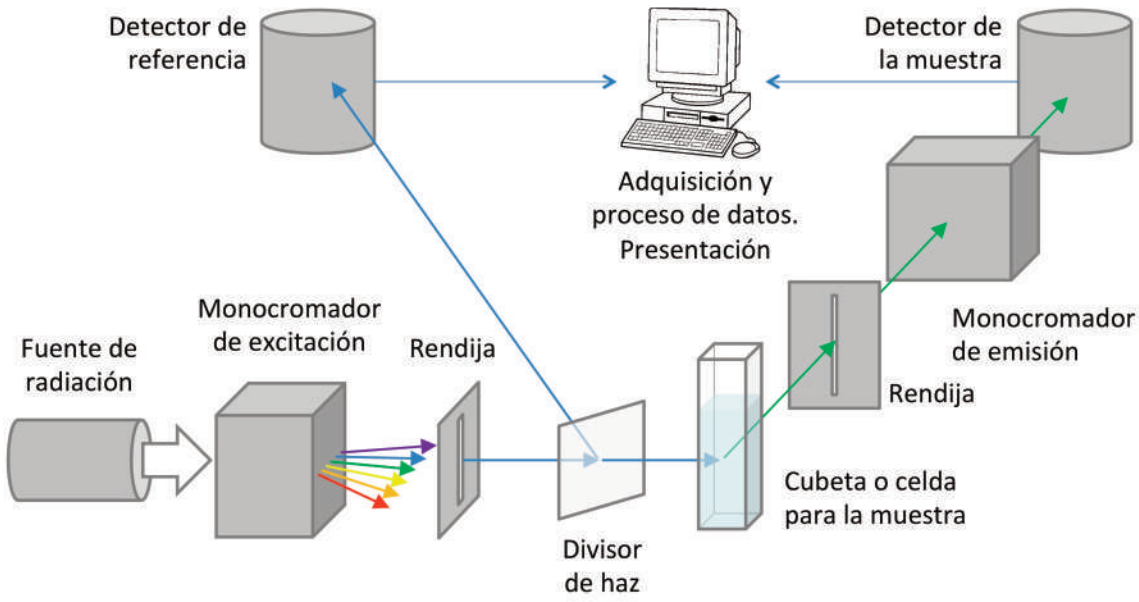


Figura 11.4
Esquema de un espectrofluorómetro de haz doble

- Las cubetas para la muestra son de cuarzo o sílice fundida, ya que la absorción de radiación ocurre habitualmente en la región UV. Suelen tener las cuatro caras transparentes para que se puedan colocar en cualquier orientación.
- Los monocromadores son habitualmente redes de difracción, aunque existen también fluorómetros, más económicos, equipados con filtros.
- Los detectores más frecuentes son fototubos multiplicadores.

La principal diferencia de un espectrofluorómetro con un espectrofotómetro UV-vis consiste en la presencia de dos monocromadores: un primer monocromador de excitación, para seleccionar la longitud de onda de la radiación que va a provocar la excitación de las moléculas del analito; y un segundo monocromador, tras la muestra, que aísla la emisión de fluorescencia por parte de la muestra. El eje fuente-monocromador de excitación-muestra se sitúa perpendicularmente al eje muestra-monocromador de emisión-detector, para minimizar la contribución de la radiación dispersada o proveniente de la fuente.

La mayor parte de los instrumentos de fluorometría presentan una configuración de doble haz para compensar las fluctuaciones de la fuente.

C) Características analíticas y aplicaciones

En principio esta técnica es aplicable a especies que presenten fluorescencia, siendo estas principalmente moléculas orgánicas aromáticas; sin embargo, también es posible analizar com-

puestos no fluorescentes si se les hace reaccionar con moléculas fluorescentes dando lugar a derivados que sí presenten esta propiedad.

La información cualitativa que ofrece esta técnica se basa en la comparación de los espectros de excitación y emisión. El espectro de emisión registra la intensidad de fluorescencia en función de las longitudes de onda que se barren con el monocromador de emisión, tras fijar en el monocromador de excitación la longitud de onda de máxima absorbancia. El espectro de excitación registra la intensidad de emisión mientras se barre la longitud de onda de excitación, manteniendo fija la longitud de onda de emisión en el máximo encontrado en el caso del espectro anterior.

La existencia de varios parámetros característicos de una especie (máximos de emisión y/o excitación, y rendimiento cuántico, sobre todo) facilita la identificación de especies químicas. Sin embargo, no son muchas las moléculas que presentan fluorescencia y además muchos compuestos orgánicos muestran bandas anchas y con solapamientos, lo que limita la utilidad de esta técnica para análisis cualitativo.

La información cuantitativa se basa en la relación lineal entre la intensidad de fluorescencia y la concentración del analito que emite la señal. En este ámbito se trata de una técnica que suele presentar límites de detección más bajos y un intervalo de linealidad más amplio que la espectroscopía de absorción. Ofrece además una muy alta sensibilidad, derivada del hecho de que la señal que se relaciona con la concentración es la intensidad de fluorescencia, que es directamente proporcional a la intensidad de la radiación de excitación.

Puesto que no todas las especies presentan fluorescencia resulta ser una técnica con alta selectividad, acentuada además por el hecho de que la señal depende de dos parámetros característicos del analito: la longitud de onda de excitación y la de emisión.

Como contrapartida, la precisión está limitada por el nivel de fluctuación de la fuente de emisión; por otro lado la exactitud se ve afectada por la presencia de partículas, que pueden causar dispersión de la radiación, así como de reactivos o contaminantes que puedan aumentar o atenuar la señal de fluorescencia.

La fluorescencia se puede aplicar a la determinación de cationes inorgánicos, sobre todo de elementos metálicos situados fuera de los grupos de transición (estos iones son menos susceptibles de sufrir procesos de desactivación), mediante la formación de complejos de coordinación con agentes quelantes orgánicos que presentan fluorescencia.

Las aplicaciones más importantes de la fluorescencia se encuentran en el ámbito de la química orgánica, y más concretamente en el análisis de productos alimenticios y farmacéuticos, productos naturales y muestras clínicas: aminoácidos y proteínas, productos orgánicos con actividad farmacológica o toxicológica, muestras bioquímicas, vitaminas, hidrocarburos aromáticos policíclicos, etc.

11.1.2. Quimioluminiscencia

La quimioluminiscencia se genera cuando una reacción química da lugar a un producto en un estado electrónico excitado que se desactiva emitiendo radiación electromagnética (figura 11.1.b).

La instrumentación necesaria para llevar a cabo medidas quimioluminiscentes es muy simple, ya que solo se requiere un recipiente donde se deposita la muestra, haciéndola reaccionar con los reactivos adecuados. Puesto que la única radiación emitida proviene de algún producto de la reacción química que tiene lugar, no es necesario contar con ningún selector de longitud de onda. Como detector se suele emplear un fototubo multiplicador.

El número de reacciones químicas que dan lugar a productos luminiscentes es muy escaso, lo cual limita las posibilidades de uso de esta técnica. Justamente esta característica le aporta al mismo tiempo alta selectividad. Presenta además una alta sensibilidad.

Esta técnica se aplica fundamentalmente al análisis cuantitativo. La señal medida en el caso de la muestra se interpola en la curva de calibrado preparada con patrones sometidos a la reacción química en las mismas condiciones que la muestra. La principal aplicación de la quimioluminiscencia se encuentra en la determinación de ciertos gases contaminantes atmosféricos, como óxidos de nitrógeno y ozono.

La determinación de óxidos de nitrógeno se basa en las siguientes reacciones:

$$NO + O_3 \rightarrow NO_2 * + O_2$$
$$NO_2 * \rightarrow NO + \hbar\nu$$

PARA SABER MÁS

Bioluminiscencia

El fenómeno por el cual las reacciones quimioluminiscentes se producen en el interior de los seres vivos se conoce con el nombre de bioluminiscencia, que está producida en este caso por reacciones enzimáticas específicas. Se da en insectos (luciérnaga), bacterias, hongos, y es especialmente frecuente en especies marinas que viven en fondos abisales (peces, medusas, crustáceos, etc.).

Se han encontrado importantes aplicaciones prácticas de este fenómeno en el ámbito de la bioquímica clínica, ya que se ha conseguido mediante ingeniería genética identificar el gen responsable de este fenómeno en especies bioluminiscentes, logrando que se exprese en cualquier tejido, disponiendo así de un sistema marcador de gran utilidad para el estudio de enfermedades como el Alzheimer, el Parkinson o algunos tipos de cáncer.

Otro ámbito de aplicación es el control de la contaminación medioambiental: algunas bacterias bioluminiscentes se emplean como indicadores de la calidad del agua ya que la presencia de ciertos compuestos contaminantes afecta a la intensidad de la luminiscencia que estas bacterias emiten.

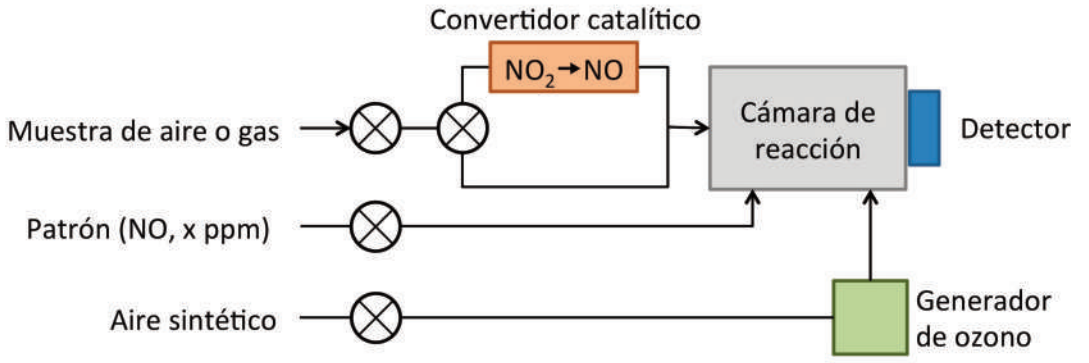


Figura 11.5
Esquema de un analizador de NO/NO_2 por quimioluminiscencia

Si la muestra se hace pasar previamente por un reactor catalítico para convertir el NO_2 en NO es posible determinar conjuntamente NO y NO_2. Este método presenta un intervalo lineal desde 10^{-3} hasta 10000 ppm. La figura 11.5 muestra un esquema de un analizador de NO/NO_2 por quimioluminiscencia.

11.2. Turbidimetría y nefelometría

11.2.1. Fundamento

Las técnicas no espectroscópicas son aquellas en las que no hay intercambio de energía, sino que se basan en una interacción entre la radiación electromagnética y la materia que da como resultado cambios en la dirección o en las propiedades físicas de dicha radiación. Los principales mecanismos de interacción que intervienen en estas técnicas son la dispersión, la refracción, la difracción y la polarización. Ejemplos de técnicas no espectroscópicas son la turbidimetría, la nefelometría, la refractometría, la polarimetría y la difracción de rayos X, entre otras. En este capítulo se estudia la turbidimetría y nefelometría, técnicas basadas en la dispersión de la radiación.

La dispersión de la radiación es un fenómeno físico mediante el cual, la radiación electromagnética, al incidir sobre una suspensión de partículas, es desviada en su dirección de propagación, de forma aparentemente caótica, en cada uno de los núcleos de dispersión, dando como resultado radiación dispersada en todas las direcciones del espacio.

Esta radiación dispersada, si es de la misma longitud de onda que la fuente primaria se denomina dispersión elástica, y es la base de las técnicas analíticas turbidimetría y nefelometría.

También es posible que los fotones incidentes interactúen con las moléculas de tal manera que ganen o pierdan energía, de modo que los fotones dispersados son desplazados en frecuencia,

y por tanto varíe su longitud de onda. Tal dispersión se denomina inelástica o Raman, y es la base de la espectroscopía Raman, técnica interesante desde el punto de vista del análisis cualitativo, pero con pocas aplicaciones cuantitativas.

La dispersión elástica es el proceso más frecuente, mientras que la dispersión inelástica afecta solo a una fracción muy pequeña de todos los fotones dispersados (aproximadamente a una millonésima parte).

PARA SABER MÁS

Fenómenos ópticos por dispersión

La mayor parte de la luz que se ve no proviene directamente de su fuente, sino que ha sido dispersada. El color azul del cielo o el blanco de las nubes son fenómenos ópticos producidos por la dispersión.

El efecto de dispersión por la atmósfera, que contiene una cierta cantidad de humedad, así como partículas de polvo y ceniza, es más notable en la luz violeta y azul (longitudes de onda menores) que en el resto del espectro. Por ello, aunque la luz solar es blanca, el sol aparece amarillento cuando se mira de frente (porque ha perdido una parte de su componente azul); en cambio la luz dispersada por la atmósfera, que ilumina el cielo, es esencialmente azul. Al acercarse el sol al horizonte, la luz que nos llega tiene que atravesar una capa más gruesa de atmósfera, por lo que la dispersión aumenta; la mayor parte de la luz violeta, azul y verde es desviada, de manera que solo nos llegan los colores comprendidos entre el amarillo y el rojo. A esto se debe el color de los ocasos.

La dispersión producida por partículas más grandes es más irregular y afecta a todos los colores por igual. Por eso, cuando hay vapor de agua o partículas de polvo en la atmósfera, el cielo pierde su color azul y adquiere una apariencia blanquecina y difusa. Como estos componentes adicionales de la atmósfera, además de dispersar absorben una mayor fracción de la luz, el cielo se oscurece, se ve gris.

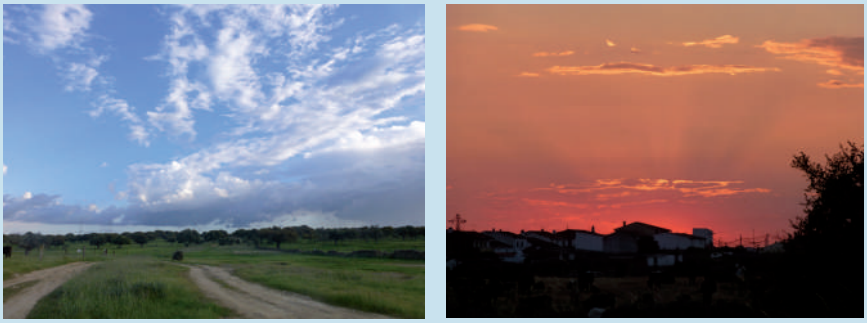


Figura 11.6
Ejemplos de dispersión en la atmósfera

Por otro lado, la dispersión elástica puede ser de varias formas, según el tamaño de la partícula dispersante. En el caso de la turbidimetría y la nefelometría las que tienen mayor importancia son:

- *Dispersión de Rayleigh:* ocurre cuando las partículas son muy pequeñas en relación con la longitud de onda de la radiación (la dimensión máxima de las partículas inferior al 5% de la longitud de onda de la radiación). La intensidad de la radiación dispersada es proporcional a λ^{-4}; por tanto, afecta en mayor medida a las longitudes de onda más cortas, y causa, por ejemplo, el color azul del cielo.
- *Dispersión de Mie:* se produce cuando la longitud de onda es del mismo orden de magnitud que las partículas dispersantes. Afecta a todas las longitudes de onda del visible. La luz casi blanca que se aprecia alrededor del sol se puede atribuir a la dispersión de Mie.

La dispersión de la luz depende de la longitud de onda de la radiación incidente, del número de partículas, de su tamaño y forma, y del índice de refracción de la partícula en relación con el medio que la rodea. Aunque es factible un tratamiento teórico que relacione las distintas variables, debido a su gran complejidad, se establece la relación empíricamente mediante calibración analítica.

La dispersión de la luz se puede medir por turbidimetría o por nefelometría. Son técnicas analíticas basadas en la dispersión de la radiación por partículas en suspensión en el seno de una disolución, cuyo objetivo es la determinación de la turbidez o de la concentración de partículas dispersantes en la disolución.

Cuando la dispersión es lo suficientemente grande como para originar una disminución apreciable en la intensidad de la radiación incidente, se puede medir el rayo transmitido en el mismo sentido que el incidente. Esta configuración analítica da lugar a la turbidimetría. El modo de operar es esencialmente análogo al espectrofotométrico. De hecho, la turbidez puede medirse con un espectrofotómetro UV/visible.

Si se trabaja con una suspensión muy diluida, la relación entre la intensidad de radiación transmitida y la incidente será muy cercana a la unidad, por lo que si se realiza la medición como en el caso anterior, estará sometida a mucha incertidumbre. La intensidad de radiación se debe medir entonces con un cierto ángulo con respecto al haz incidente. Este ángulo suele estar entre 15 y 90º. Esta configuración da lugar a la nefelometría, técnica que se caracteriza por una mayor sensibilidad respecto a la turbidimetría. En este caso la realización de las medidas es similar a la fluorescencia.

A) Determinación de la concentración mediante turbidimetría

En turbidimetría se mide la transmitancia, T, que es el cociente entre la intensidad de la fuente de radiación transmitida por la muestra, I_T, y la intensidad de la radiación de la fuente transmitida por un blanco, I_0:

$$T = \frac{I_T}{I_0}$$

La transmitancia es proporcional a la concentración de las partículas dispersantes, C, mediante una relación similar a la ley de Lambert-Beer:

$$-\log T = k \cdot b \cdot C$$

donde b es la longitud del camino óptico y k una constante que depende de varios factores, como el tamaño y la forma de las partículas y la longitud de onda de la fuente de radiación. La concentración se expresa como masa por unidad de volumen.

La relación exacta entre la transmitancia y la concentración se establece mediante una curva de calibración que se prepara usando un conjunto de patrones de concentración conocida.

B) Determinación de la concentración por nefelometría

En nefelometría, la relación entre la intensidad de la radiación dispersada, I_S, y la concentración de las partículas dispersantes, C, se expresa como:

$$I_S = k_s \cdot I_0 \cdot C$$

donde k_S es una constante empírica del sistema e I_0 es la intensidad de la fuente de la radiación incidente. El valor de k_S se obtiene como en el caso de la turbidimetría, preparando una serie de patrones y obteniendo la ecuación de la recta.

11.2.2. Instrumentación

Los turbidímetros y los nefelómetros están integrados por los mismos componentes: fuente de radiación, selector de longitud de onda, detector y procesador de la señal. La única diferencia radica en el ángulo de medida con respecto a la fuente de radiación. Muchas veces las medidas turbidimétricas pueden realizarse en espectrómetros de absorción molecular, vistos en capítulos anteriores, y las medidas nefelométricas en espectrofluorómetros. Los diseños de los aparatos se esquematizan en las figura 11.7 y 11.8:

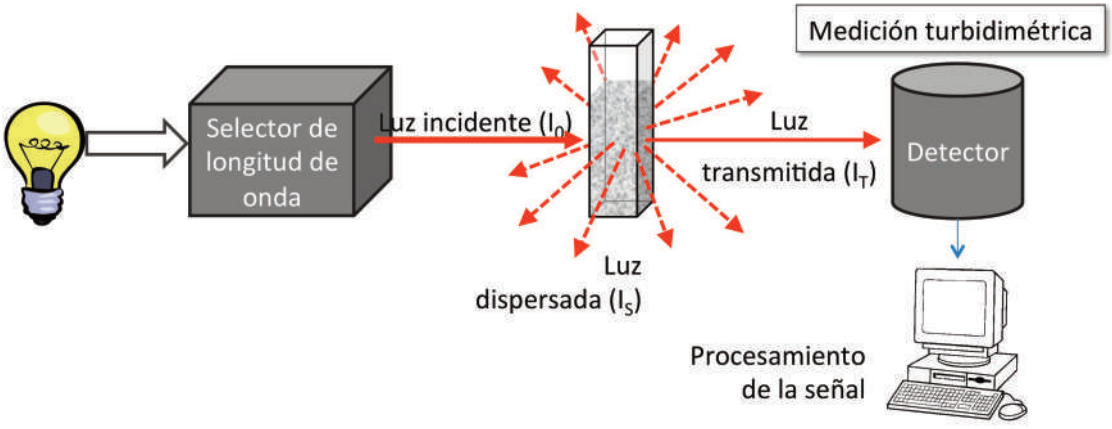


Figura 11.7
Esquema de un turbidímetro

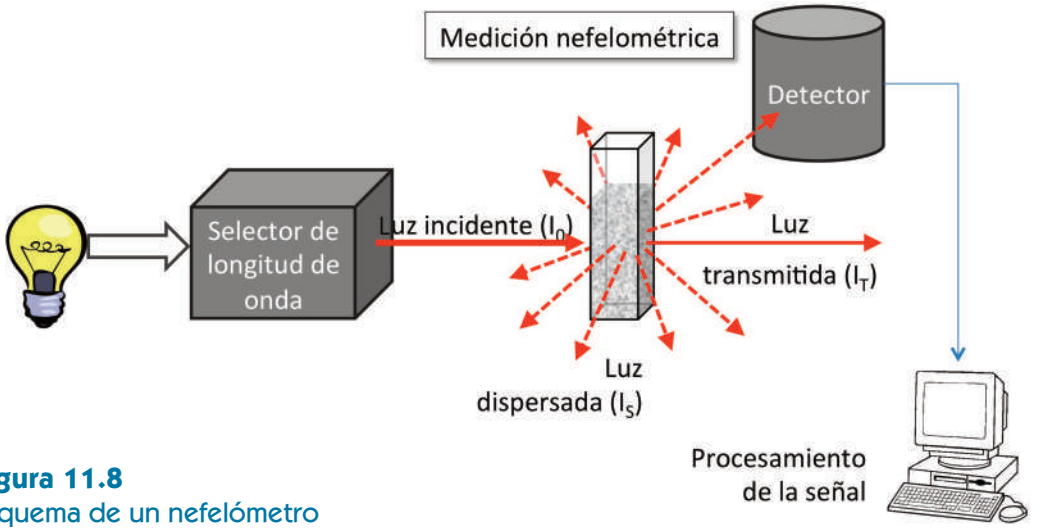


Figura 11.8
Esquema de un nefelómetro

A) Fuente de radiación

Como fuente de radiación se utilizan lámparas de filamento de wolframio, diodos fotoemisores e incluso, en nefelometría, donde es importante que la fuente sea de gran potencia radiante, se emplean tubos láser, con mezcla de helio-neón o helio-cadmio.

B) Selector de la longitud de onda

En nefelometría, al ser la radiación incidente de igual longitud de onda que la detectada, solo es necesario un sistema monocromador, aunque la mayoría de los aparatos tienen dos.

En ambas técnicas, pero sobre todo en turbidimetría (donde la radiación incidente se transmite a lo largo de la muestra), hay que evitar la absorción de la radiación. La longitud de onda debe seleccionarse adecuadamente para que la absorción del medio se reduzca al mínimo.

Como selectores de longitud de onda se utilizan filtros o monocromadores.

C) Celdas para la muestra

Las celdas para la muestra pueden tener diferentes formas y tamaños. Generalmente son prismáticas o cilíndricas y suelen ser de vidrio, con tapón roscado. Habitualmente llevan una línea indicando hasta dónde deben llenarse.

D) Detector

Muchos aparatos pueden usarse indistintamente para medidas turbidimétricas y nefelométricas, por lo que viene equipados con dos detectores, una en línea con la fuente de radiación para medir la luz transmitida y otro situado en un ángulo determinado, para captar la radiación dispersada. Los detectores suelen ser tubos fotomultiplicadores.

11.2.3. Características analíticas y aplicaciones

Tanto la turbidimetría como la nefelometría se utilizan para medir concentraciones situadas entre 10^{-4} y 10^{-9} mol/L, pero este límite aún puede ser más bajo para la nefelometría, llegando a detectar concentraciones cercanas a 10^{-12} mol/L.

Ambas técnicas tienen una gran variedad de aplicaciones. Fundamentalmente se utilizan para medidas de turbidez, parámetro importante para el control de calidad de aguas y de sus tratamientos de depuración. Igualmente, se realizan medidas de turbidez en bebidas comerciales y en el control y monitorización de procesos de separación y filtrado a nivel industrial. Para expresar los resultados de turbidez, las unidades actualmente utilizadas son la Unidad Nefelométrica de Turbidez (NTU) y la Unidad de Turbidez de la Formazina (FTU), ambas equivalentes.

Por otro lado, estas técnicas también se aplican a la medida de la concentración de determinadas especies químicas, como cationes y aniones inorgánicos, previa precipitación de los mismos al tratarlos con un agente precipitante adecuado (cuadro 11.1); el ejemplo más representativo es la determinación de sulfatos.

CUADRO 11.1
Ejemplos de analitos medibles por turbidimetría o nefelometría

Analito	Agente precipitante	Precipitado
SO_4^{2-}	$BaCl_2$	$BaSO_4$
Ag^+	NaCl	AgCl
CO_3^{2-}	$BaCl_2$	$BaCO_3$
Ca^{2+}	$Na_2C_2O_4$	CaC_2O_4

Otras aplicaciones importantes de la turbidimetría y la nefelometría se sitúan en el ámbito de la bioquímica y del análisis clínico, por ejemplo la determinación de proteínas en fluidos.

En general, la turbidimetría es aplicable cuando la dispersión es suficientemente grande, es decir, cuando hay alta concentración de partículas. La nefelometría es preferible para concentraciones bajas de partículas.

PARA SABER MÁS

Otras aplicaciones

Además, a pesar de que los términos *turbidimetría* y *nefelometría* suelen restringirse a aquellas aplicaciones en las que se mide la concentración de partículas en suspensión, existen también otras aplicaciones, entre las que pueden citarse la determinación de la forma y tamaño de las partículas, así como la de masas moleculares, especialmente en el caso de polímeros.

11.2.4. Metodolología

El manejo del turbidímetro y el nefelómetro es muy sencillo, suelen ser en muchas ocasiones aparatos portátiles, con batería, simples y listos para medir (figura 11.9). Para medidas diferentes a la turbidez, la etapa limitante, como en otras muchas técnicas, es la preparación de la muestra.

A) Preparación de la muestra

Se han visto las ecuaciones que relacionan la dispersión con la concentración de partículas dispersantes, pero además de la concentración, también influyen en gran medida el tamaño y forma de dichas partículas. Por ello, muestras con el mismo número de partículas dispersantes pueden dar lugar a distintas transmitancias o intensidades de radiación dispersadas, si presentan diferente diámetro medio de partículas. Se hace del todo necesario mantener una distribución uniforme del tamaño de partículas en toda la muestra, así como entre la muestra y los patrones.

Muchos métodos nefelométricos y turbidímetros se basan en la formación de partículas mediante precipitación. Para que el tamaño de las partículas producidas sea uniforme, hay que controlar una serie de parámetros en esta precipitación: concentración y orden de adición de reactivos, pH, temperatura, fuerza iónica, velocidad de agitación, etc. Además, también es importante el tiempo transcurrido entre la formación del precipitado y el momento de la medida.

Muchas veces se añade un tensoactivo, como la glicerina o la gelatina, para estabilizar el precipitado en forma coloidal.

B) Calibración del aparato

Normalmente los equipos vienen calibrados de fábrica, no siendo necesaria la calibración antes de su empleo. Se deben hacer calibraciones periódicas, según su utilización y las recomendaciones del fabricante. Este periodo suele ser de tres meses, o más frecuentemente si la experiencia así lo aconseja. La calibración se realiza con el patrón que se indique en las instrucciones del aparato, que está constituido por una suspensión de un polímero estable, habitualmente la formazina.

C) Calibración del método

Para realizar medidas de turbidez, el patrón habitual para preparar las curvas de calibración también es formazina, aunque existen suspensiones de otros polímeros en el mercado que se reconocen como alternativas aceptables, como el estireno-divinil-benceno (SDVB).



Figura 11.9
Turbidímetro

PARA SABER MÁS

Formazina

Las suspensiones de formazina se preparan con agua destilada, hexametilen-tetramina y sulfato de hidracina, en diferentes concentraciones. Hay que tener especial cuidado en la preparación, ya que el sulfato de hidracina es cancerígeno y altamente tóxico. Las casas comerciales suelen suministrar los patrones ya preparados y estabilizados, proporcionando calibraciones de los equipos muy precisas.

Para la determinación de aniones o cationes por precipitación, o de otras sustancias, se preparan una serie de patrones, que deben ser tratados exactamente igual que las muestras.

D) Realización de medidas

Las celdas o cubetas para la muestra se deben manipular por la parte superior, para no dejar huellas que interfieran en las medidas. Tras la introducción de la muestra, se deben limpiar con un paño suave, para eliminar cualquier residuo.

A continuación se aplica una película delgada de aceite de silicona. Se depositan unas gotas sobre la superficie externa del vidrio y se extienden con un paño suave hasta que se reparta la silicona uniformemente. No se debe aplicar en exceso, pues podría retener suciedad, además de contaminar el compartimento para la celda. La silicona posee el mismo índice de refracción que el vidrio y, al aplicarla sobre el mismo, rellena y enmascara los pequeños rasguños o imperfecciones que pudiera tener la superficie de la celda.

Otro aspecto importante es la desgasificación de la muestra, ya que las burbujas de aire u otros gases alteran las medidas, por lo que es necesaria su eliminación. Puede hacerse por ultrasonido o aplicando vacío, por ejemplo.

La realización de medidas se realiza previa homogeneización de la muestra o patrones contenidos en la celda de medida. Se recomienda tomar varias lecturas, homogeneizando entre cada una de ellas.

Resumen

Las técnicas basadas en la luminiscencia implican la medida de la emisión de radiación por parte de especies químicas que se encuentran en un estado electrónico excitado. Este estado excitado puede ser el resultado de una absorción previa de radiación electromagnética, lo que da origen a las técnicas fotoluminiscentes: fluorescencia y fosforescencia; o bien puede ser el resultado de una reacción química, que es la base de la quimioluminiscencia.

La fluorescencia molecular es, entre las técnicas fotoluminiscentes, la que mayor número de aplicaciones presenta. Los componentes de los instrumentos de esta técnica son similares a los descritos para la espectroscopía de absorción molecular UV-vis, con la diferencia fundamental de que fuente de radiación, muestra y detector se sitúan en ángulo, habitualmente de 90º, con un monocromador en cada uno de los ejes, para seleccionar la longitud de onda de excitación y de emisión, respectivamente.

La quimioluminiscencia requiere de una instrumentación muy simple, ya que solo se detecta y cuantifica la radiación producida en una reacción química.

Aunque estas técnicas presentan un campo de aplicación limitado, los métodos de análisis basados en estos fenómenos suelen presentar una alta selectividad y sensibilidad, por lo que resultan de gran utilidad para la determinación de ciertas especies químicas concretas.

La turbidimetría y la nefelometría son técnicas ópticas no espectroscópicas, ya que en este caso la radiación electromagnética no se ve involucrada en procesos de absorción y emisión de energía, sino que sufre dispersión como consecuencia de la presencia de partículas en suspensión. En la turbidimetría se relaciona la concentración de partículas en suspensión con la intensidad de la radiación transmitida a través de la muestra, mientras que en nefelometría se relaciona con la intensidad de la radiación dispersada. Por ello en el primer caso el detector se coloca en línea con la fuente y la muestra y en el segundo se suele colocar en ángulo de entre 15 y 90º con respecto al eje fuente-muestra.

Se trata de técnicas de fácil aplicación, que encuentran su mayor utilidad en el control de calidad de aguas y otras bebidas. También resulta útil en la determinación de ciertos parámetros clínicos y en la determinación de iones inorgánicos, sometiéndolos como paso previo a un proceso de precipitación.

Práctica n.º 14

Determinación de sulfatos en agua por turbidimetría

Objetivos

- Determinar la concentración de sulfatos en una muestra problema por turbidimetría.
- Manejar adecuadamente un turbidímetro.

Procedimiento

1. Preparación de patrones. Se preparan una serie de patrones en el rango de concentraciones entre 0 y 40 mg de sulfato en 100 mL de disolución, a incrementos de 5 mg/L. Partir de una disolución patrón de sulfato de 1,00 g/L, preparada a partir de sulfato de sodio anhidro.
2. Preparación de la solución acondicionadora de sulfato. Colocar en un vaso de 1 L en el siguiente orden y mezclando después de cada adición: 300 mL de agua, 30 mL de HCl concentrado, 100 mL de alcohol isopropílico (o etílico) y 75 g de NaCl. Finalmente, añadir 50 mL de glicerol (medidos con probeta). Mezclar todo y llevar a un volumen final de 500 mL con agua.
3. Tomar 50 mL de cada patrón preparado y depositar en un vaso de 100 mL. Adicionar a cada uno de ellos 2,5 mL de disolución acondicionadora y agitar con una varilla de vidrio; adicionar una cucharilla de cristales de cloruro de bario y agitar nuevamente de forma vigorosa.
4. Leer antes de 5 minutos en el turbidímetro o en el espectrofotómetro a 420 nm.
5. Tomar 50 mL de la muestra de agua para analizar, o de una porción adecuada llevada a 50 mL si la concentración de sulfato es elevada en dicha muestra, y proceder igual que con los patrones.
6. Con los resultados obtenidos, calcular la concentración de sulfatos en la muestra.

Notas

1. El cloruro de bario utilizado debe ser cristalizado, de tamaño de cristal uniforme.
2. La disolución acondicionadora de sulfato es estable seis meses almacenada en frasco de vidrio topacio.
3. La concentración mínima detectable es de aproximadamente 1 mg SO_4^{2-}/L.
4. La muestra debe ser incolora y perfectamente transparente. Si es necesario, filtrar con un tamaño de poro de 0,45 µm.
5. Para obtener resultados reproducibles, es imprescindible mantener siempre el mismo orden de adición de reactivos y controlar rigurosamente el tiempo transcurrido entre la adición de cloruro de bario y la lectura de la absorbancia.

Ejercicios propuestos

1. Buscar información sobre métodos normalizados de análisis basados en la emisión de fluorescencia: analitos, muestras, condiciones de análisis, etc.
2. Una de las aplicaciones típicas de la quimioluminiscencia es la determinación de óxidos de nitrógeno en la atmósfera. Buscar información sobre otros métodos de análisis basados en la quimioluminiscencia.
3. Con el objetivo de determinar la concentración de sulfato en una muestra de agua, se preparan una serie de disoluciones patrón de sulfato, y se mide su transmitancia mediante turbidimetría, obteniendo los siguientes resultados:

SO_4^{2-} (mg/L)	0,00	5,00	15,00	25,00	35,00
Transmitancia	1	0,704	0,498	0,335	0,242

Se mide la muestra en las mismas condiciones, encontrándose una transmitancia de 0,616. Calcular la concentración de sulfato, en mg/L.

4. Realizar los cálculos necesarios para la preparación de los patrones de sulfato indicados en la práctica del capítulo "Determinación de sulfatos por turbidimetría".

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. En fluorescencia molecular las bandas de emisión aparecen:
   - ☐ *a)* Desplazadas a mayores longitudes de onda con respecto a las bandas de excitación.
   - ☐ *b)* Desplazadas a mayores frecuencias con respecto a las banda de excitación.
   - ☐ *c)* A la misma longitud de onda que la banda de excitación.

2. ¿Cuál es la principal diferencia en el diseño instrumental entre la espectrofluorometría y la espectroscopía de absorción?:
   - ☐ *a)* En espectrofluorometría se utilizan de redes de difracción como monocromadores.
   - ☐ *b)* En espectrofluorometría se utilizan dos monocromadores: uno de excitación y otro de emisión.
   - ☐ *c)* En espectrofluorometría se utilizan dos fuentes distintas, para el haz de la muestra y para el haz de referencia.

3. La fluorescencia se puede aplicar a la obtención de información:
   - ☐ *a)* Cualitativa, para la identificación de analitos.
   - ☐ *b)* Cuantitativa, para la determinación de la concentración de un analito.
   - ☐ *c)* Tanto cualitativa como cuantitativa.

4. Indica cuál de las siguientes características es una de las principales ventajas que presentan los métodos de análisis basados en la quimioluminiscencia:
   - ☐ *a)* Amplio campo de aplicación.
   - ☐ *b)* Simplicidad instrumental.
   - ☐ *c)* Obtención simultánea de información cualitativa y cuantitativa.

5. La radiación dispersada de forma elástica es:
   - ☐ *a)* De mayor longitud de onda que la radiación incidente.
   - ☐ *b)* De menor longitud de onda que la radiación incidente.
   - ☐ *c)* De la misma longitud de onda que la radiación incidente.

6. La principal diferencia entre la turbidimetría y la nefelometría es:
   - ☐ *a)* La fuente de radiación que se utiliza.
   - ☐ *b)* La situación del detector con respecto a la fuente de radiación.
   - ☐ *c)* El tamaño del equipo que se va a utilizar.

7. El objetivo de añadir aceite de silicona en las celdas de las muestras antes de realizar las medidas nefelométricas o turbidimétricas es:
   - ☐ *a)* Enmascarar los pequeños rasguños o imperfecciones que pudiera tener la celda.
   - ☐ *b)* Conseguir que la celda brille más.
   - ☐ *c)* Dotar a la celda de mayor resistencia mecánica, evitando su ruptura.

SOLUCIONES:

1. **a** b c
2. a **b** c
3. a b **c**
4. a **b** c
5. a b **c**
6. a **b** c
7. **a** b c

Parte IV

Técnicas magnéticas

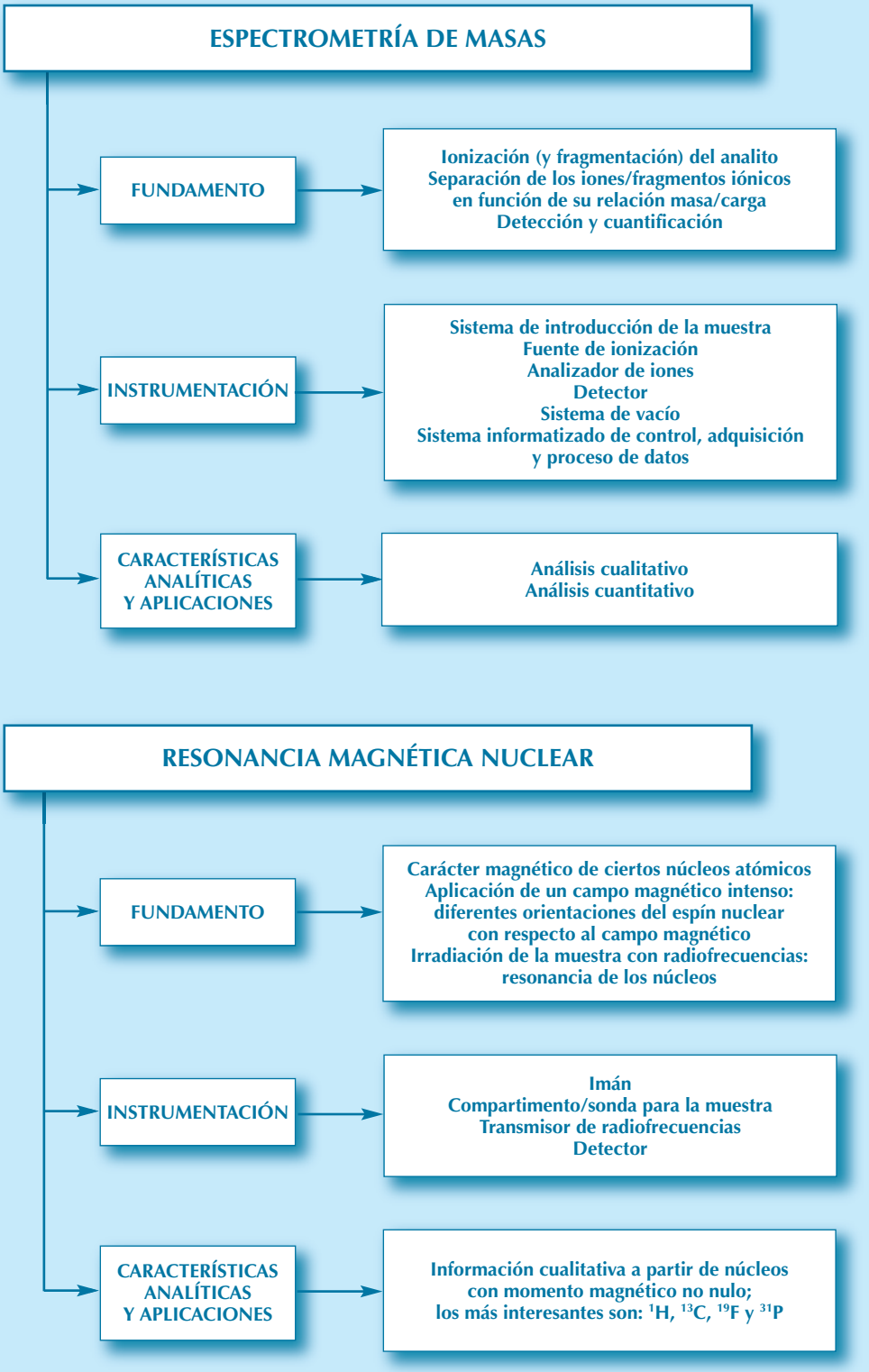
12

Espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear

Objetivos

1. Comprender los fundamentos básicos, la instrumentación y las características analíticas y principales aplicaciones de la espectrometría de masas (EM).
2. Conocer los fundamentos básicos, la instrumentación y las características analíticas y principales aplicaciones de la resonancia magnética nuclear (RMN).

Mapa conceptual del capítulo


ESPECTROMETRÍA DE MASAS
FUNDAMENTO
Ionización (y fragmentación) del analito
Separación de los iones/fragmentos iónicos en función de su relación masa/carga
Detección y cuantificación
INSTRUMENTACIÓN
Sistema de introducción de la muestra
Fuente de ionización
Analizador de iones
Detector
Sistema de vacío
Sistema informatizado de control, adquisición y proceso de datos
CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS Y APLICACIONES
Análisis cualitativo
Análisis cuantitativo
RESONANCIA MAGNÉTICA NUCLEAR
FUNDAMENTO
Carácter magnético de ciertos núcleos atómicos
Aplicación de un campo magnético intenso: diferentes orientaciones del espín nuclear con respecto al campo magnético
Irradiación de la muestra con radiofrecuencias: resonancia de los núcleos
INSTRUMENTACIÓN
Imán
Compartimento/sonda para la muestra
Transmisor de radiofrecuencias
Detector
CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS Y APLICACIONES
Información cualitativa a partir de núcleos con momento magnético no nulo; los más interesantes son: ^{1}H, ^{13}C, ^{19}F y ^{31}P

Glosario

Relación giromagnética. Relación de proporcionalidad entre el momento magnético de una partícula y su momento angular. Se representa con la letra griega γ (gamma) y tienen un valor diferente para cada núcleo atómico.

Solenoide. Dispositivo constituido por un hilo conductor aislado y enrollado en forma de bobina, por el que circula una corriente eléctrica creando en su interior un campo magnético intenso y uniforme.

Superconductor. Material capaz de conducir la corriente eléctrica ofreciendo una resistencia nula en unas condiciones determinadas.

Tesla. Unidad de inducción magnética o de densidad de flujo magnético del sistema internacional de unidades. Nombrada así en honor al físico e inventor Nikola Tesla. La inducción magnética es el fenómeno que da lugar a la producción de una fuerza electromotriz, o tensión eléctrica, entre dos puntos de un elemento conductor que se mueve con respecto a un campo magnético estático (o que se mantiene estático con respecto a un campo magnético variable).

12.1. Espectrometría de masas

12.1.1. Fundamento

La espectrometría de masas (EM; también se usan mucho sus siglas en inglés, MS) se basa en la ionización de las moléculas o átomos que forman una muestra, de forma que en una subsiguiente etapa estos iones pueden ser analizados en función de las diferentes trayectorias o velocidades con las que se mueven en el seno de campos electromagnéticos de características variables, y que en general dependen de la relación masa/carga (m/z) de los iones.

En función del sistema de ionización que se emplee las moléculas pueden sufrir una fragmentación más o menos intensa, con lo que los iones analizados pueden estar constituidos por fragmentos de la molécula original.

Un detector específico cuantifica separadamente cada uno de los iones producidos a partir de una muestra, dando lugar así a un espectro de masas en el que se representa la abundancia relativa de cada ion (generalmente en porcentaje sobre el ion más abundante, al que se le asigna el valor 100), en función de su relación masa/carga. Es habitual que la carga de los iones sea la unidad, con lo que cada ion o fragmento iónico se caracteriza básicamente por su masa (figura 12.1).

Tradicionalmente la espectrometría de masas se ha clasificado como una técnica magnética, ya que los primeros sistemas de análisis de iones que se desarrollaron utilizaban un campo magnético para separarlos. En la actualidad existen sin embargo sistemas analizadores de iones que hacen uso de otros fundamentos distintos.

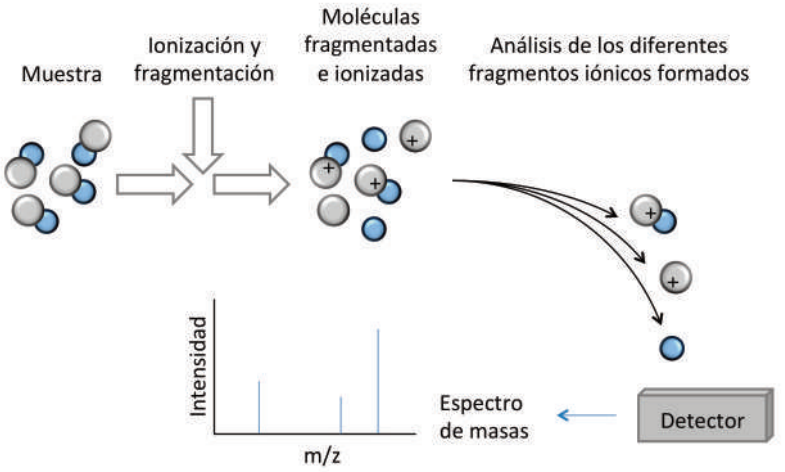


Figura 12.1
Esquema con los procesos básicos que tienen lugar en un espectrómetro de masas, junto a un espectro de masas

12.1.2. Instrumentación

En la figura 12.2 se muestran los módulos que configuran un equipo básico de espectrometría de masas.

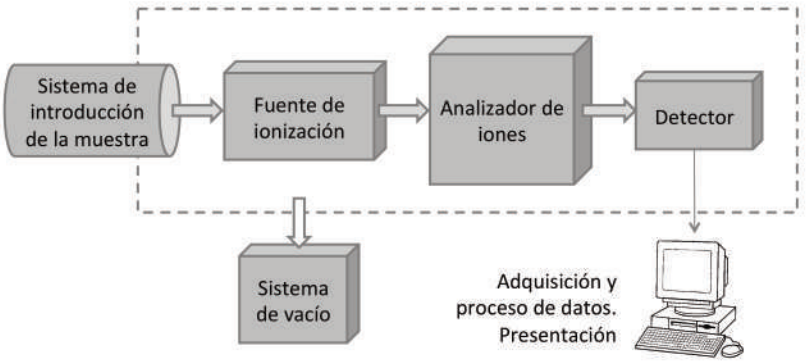


Figura 12.2
Componentes básicos de un espectrómetro de masas

Se pueden encontrar varios tipos de cada uno de los módulos instrumentales que forman un equipo de EM; la elección de uno u otro depende en principio del estado de agregación de la muestra (cuadro 12.1). Los equipos más modernos pueden venir equipados con varios sistemas de introducción de la muestra, y varias fuentes de ionización para adaptarse así a diferentes tipos de muestras.

CUADRO 12.1
Requisitos generales de distintos módulos instrumentales en EM, en función del tipo de muestra

Tipo de muestra	Sistema de introducción/ionización	Analizador
Gases; líquidos y sólidos volátiles	– Requieren alto vacío. – No son válidos para sólidos o líquidos de alto punto de ebullición, baja volatilidad o masa molecular elevada.	– Específicos para moléculas con masa molecular no muy elevada.
Líquidos y sólidos disueltos	– Deben ser compatibles con la introducción de muestras a mayor presión que en caso de gases	– Para analitos con mayor masa molecular. Deben ser compatibles con sustancias no volátiles o térmicamente lábiles.
Sólidos	– Específicos, especialmente en el caso de sólidos que se deben volatilizar a temperaturas muy elevadas.	– Similares a los anteriores.

A) Sistema de introducción de la muestra

Se debe compatibilizar la introducción de una cantidad adecuada de muestra con el mantenimiento del alto vacío del interior del sistema.

El sistema más sencillo es el denominado *indirecto,* adecuado para muestras gaseosas y líquidas con bajo punto de ebullición. Las muestras gaseosas se introducen directamente por aspiración, mientras que las líquidas se introducen mediante una microjeringa a través de un septum; posteriormente pasan a través de una zona calefactada hasta un depósito donde se expanden, volatilizándose las muestras líquidas; a partir de aquí una pequeña fracción de la muestra se hace pasar al módulo de ionización.

El *sistema directo* de introducción es adecuado para sólidos y líquidos no volátiles. Una sonda lleva directamente la muestra hasta la zona de ionización a través de una cámara que permite mantener el vacío. Este sistema permite la introducción de muy pequeñas cantidades de muestra.

Existen también sistemas de introducción que permiten el acoplamiento del espectrómetro de masas a la salida de un equipo de cromatografía de gases, cromatografía de líquidos o electroforesis. Este acoplamiento de técnicas proporciona una extraordinaria potencia analítica.

B) Fuente de ionización

Además de la formación de iones, las fuentes de ionización comunican a las moléculas de analito energía suficiente como para que tenga lugar la rotura de enlaces. Cada fuente de ionización puede originar, para una misma molécula, un patrón de fragmentación distinto, lo que se traduce en espectros de masas diferentes.

Las fuentes de ionización se pueden clasificar en dos grupos, en función de su idoneidad para el tipo de muestra al que se aplica cada fuente: fuentes de fase gaseosa y fuentes de desorción (cuadro 12.2).

Las fuentes de fase gaseosa son adecuadas para muestras gaseosas y líquidas térmicamente estables y de bajo punto de ebullición. En este tipo de fuentes la muestra se ioniza una vez que está en estado gaseoso.

Las fuentes de desorción producen la ionización de las moléculas de la muestra sin volatilización previa, por lo que son adecuadas para muestras sólidas o líquidas, no volátiles y térmicamente inestables.

CUADRO 12.2
Fuentes de ionización de fase gaseosa y de desorción

Fuentes de fase gaseosa	Fuentes de desorción
Impacto electrónico	Desorción por campo
Ionización química	Ionización por electronebulización
Ionización por fotoionización	Bombardeo con átomos rápidos (FAB)
Ionización por campo	Ionización por desorción láser asistida por matriz
	Desorción por plasma

Por otro lado, también se puede hablar de fuentes de ionización blandas y duras. Las primeras originan poca fragmentación, con lo que en el espectro de masas aparece un pico correspondiente al ion molecular y pocos o ninguno más. Las fuentes duras provocan una fragmentación más o menos intensa, originando espectros con numerosos picos.

La ionización por impacto electrónico es el sistema más antiguo y aún hoy sigue teniendo gran importancia. Los electrones son emitidos por un cátodo constituido por un filamento de wolframio, que se mantiene a una diferencia de potencial de 70 V con respecto a un ánodo. Estos electrones son acelerados y dirigidos perpendicularmente contra la corriente de moléculas de la muestra en estado gaseoso. El impacto produce la ionización y fragmentación de las moléculas entrantes. Los iones producidos son acelerados y dirigidos hacia el analizador de iones por medio de una serie de placas con rendijas que producen su repulsión y aceleración por medio de la diferencia de potencial adecuada entre ellas (figura 12.3).

Otras técnicas de ionización muy empleadas son la ionización química, en la que se hace impactar iones provenientes de un gas reactivo (el metano es el más frecuentemente empleado), y el bombardeo con átomos rápidos (FAB, en inglés) en el que se utilizan átomos de xenón o argón acelerados.

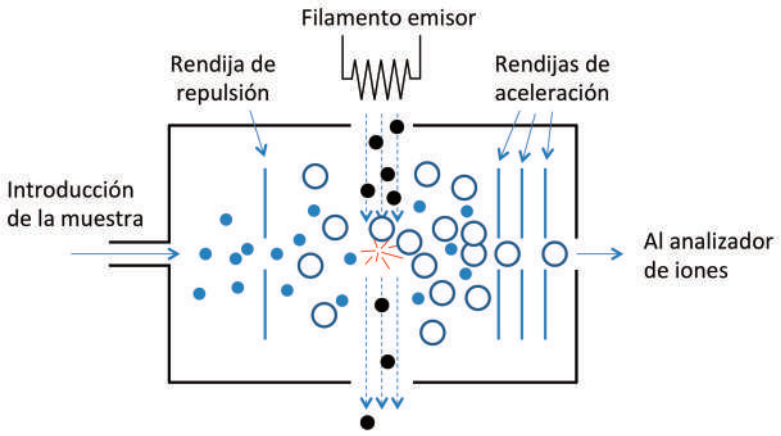


Figura 12.3
Esquema de una fuente de ionización de impacto electrónico

C) Analizador de iones

Es el módulo encargado de la separación de los iones formados en función de su relación masa/carga. Existen diferentes modelos de analizadores, de los cuales se van a describir los más sencillos y utilizados.

El analizador de enfoque magnético (o sector magnético) hace uso de un imán permanente, o de un electroimán, cuyo campo magnético se sitúa perpendicularmente a la trayectoria de los iones formados a partir de la muestra. Estos iones describen, en el campo magnético, una trayectoria circular cuyo radio está en función de la relación m/z de cada ion. El espectro de masas se obtiene variando gradualmente el potencial de aceleración al que se someten los iones, o la intensidad del campo magnético (esta es la opción más habitual), de forma que cada ion alcanza el detector secuencialmente a una determinada velocidad (figura 12.4). Estos analizadores son los que históricamente se desarrollaron en primer lugar, lo que ha dado pie para que tradicionalmente se clasifique la EM como una técnica magnética; sin embargo en la actualidad no es el analizador más empleado por lo que esta consideración se ha visto superada.

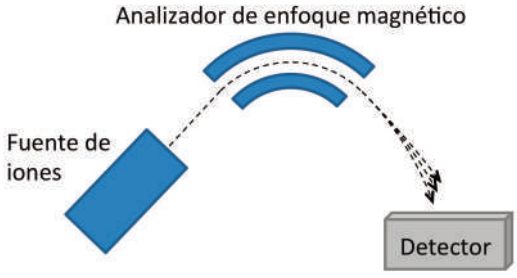


Figura 12.4
Esquema de un analizador de enfoque magnético

Los analizadores de enfoque magnético presentan una resolución limitada. Con el fin de aumentar la resolución se desarrollaron analizadores de doble enfoque, con un sector magnético y otro electrostático. Estos analizadores de doble enfoque presentan un gran tamaño, por lo que en la actualidad se usan habitualmente otros analizadores más efectivos y compactos.

El analizador cuadripolar es actualmente el más empleado. Consiste en cuatro electrodos de forma cilíndrica paralelos y enfrentados dos a dos (figura 12.5).

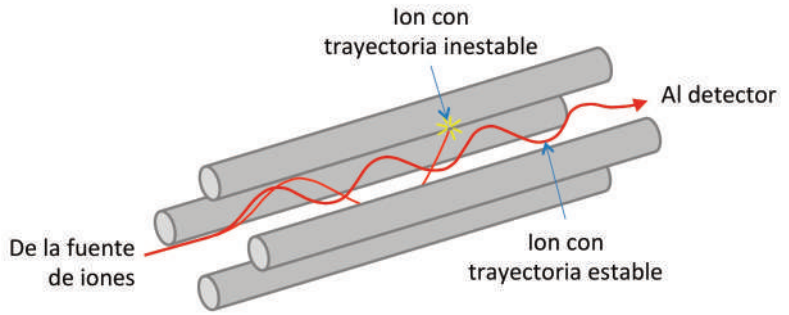


Figura 12.5
Esquema de un analizador cuadripolar o cuadripolo

Entre cada par de electrodos se aplica una diferencia de potencial mediante una fuente de alimentación de corriente continua; al mismo tiempo se les aplica una diferencia de potencial de corriente alterna. La diferencia de potencial tanto de corriente continua como alterna se va incrementando, de forma que en un instante determinado solo los iones de una m/z concreta atravesarán el canal entre los cuatro electrodos llegando así hasta el detector.

Otro sistema analizador es el denominado de "tiempo de vuelo". En este analizador, una vez que se forman los iones, éstos son acelerados y dirigidos a un tubo de deriva donde no están sometidos a ningún campo. La velocidad de cada ion dentro del tubo será inversamente proporcional a su masa, de forma que los iones más ligeros llegarán al detector antes que los más pesados. Este sistema presenta menor sensibilidad y peor límite de detección, y por tanto menor resolución que los analizadores cuadripolares, pero a cambio presentan gran sencillez, robustez y rapidez en la adquisición de datos.

D) Detector

El detector genera una señal eléctrica proporcional a la cantidad de cada uno de los iones que llegan hasta él. Uno de los más empleados es el multiplicador de electrones, semejante al fototubo multiplicador. En este detector los iones, una vez separados en el analizador, son atraídos por una placa metálica denominada dínodo de conversión; al chocar contra la superficie de este dínodo cada haz de iones produce una cantidad proporcional de electrones que son atraídos a su vez por un segundo dínodo, de donde se emiten electrones que son atraídos por un tercer dínodo y así sucesivamente. Un multiplicador de electrones habitual presenta de 12 a 24 dínodos en los que se repite el proceso descrito.

Una variante del anterior es el detector de dínodos continuos o "*channeltron*", en el que los dínodos han sido sustituidos por un tubo de sección decreciente, sobre cuya superficie se crea un gradiente continuo de potencial desde la boca al fondo del tubo. Los electrones producidos

en un primer choque son dirigidos hacia el fondo del tubo produciéndose en el camino nuevos choques que crean finalmente una señal medible.

Estos detectores presentan una vida útil limitada debido al choque de los iones sobre la superficie del dínodo.

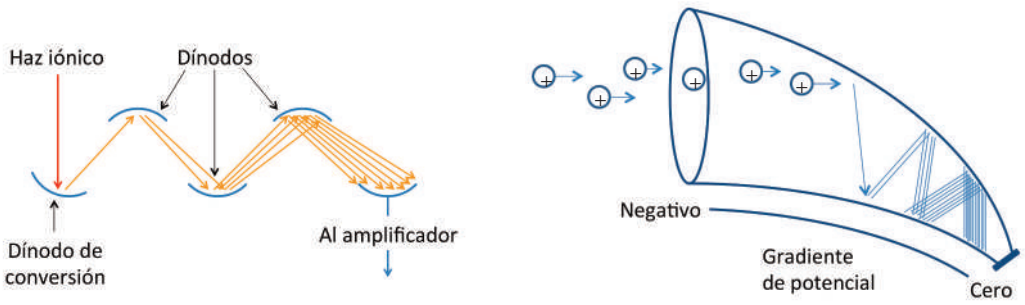


Figura 12.6
Esquema de un detector de dínodos de multiplicador de electrones (izqda.) y de un detector de dínodos continuos (dcha.)

Existen además detectores tipo multicanal, que son capaces de medir un amplio rango de señales de forma simultánea, lo que conduce a una velocidad de lectura más alta, que se refleja en una mayor sensibilidad.

E) Sistema de vacío

Los espectrómetros de masas requieren la aplicación de sistemas que aseguren un alto nivel de vacío en la fuente de ionización, el analizador y el detector. El objetivo es el de favorecer las colisiones adecuadas para que tenga lugar la ionización de las moléculas de la muestra, así como la conservación de dichos iones, impidiendo la interferencia en el proceso de las moléculas del aire.

F) Acoplamiento de la espectrometría de masas con otras técnicas instrumentales

La espectrometría de masas por sí sola presenta una capacidad limitada para identificar los componentes de una mezcla compleja, ya que el espectro de masas que se obtiene correspondería a la suma de todos los fragmentos iónicos formados a partir de cada uno de los componentes presentes. Sin embargo, su acoplamiento a técnicas instrumentales de separación como son la cromatografía de gases, la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), e incluso la electroforesis, permite la separación, identificación y cuantificación de los componentes de una mezcla compleja. La espectrometría de masas se puede emplear como un detector universal si se registra el total de iones producidos, o bien como un detector específico si se registra un ion de masa determinada.

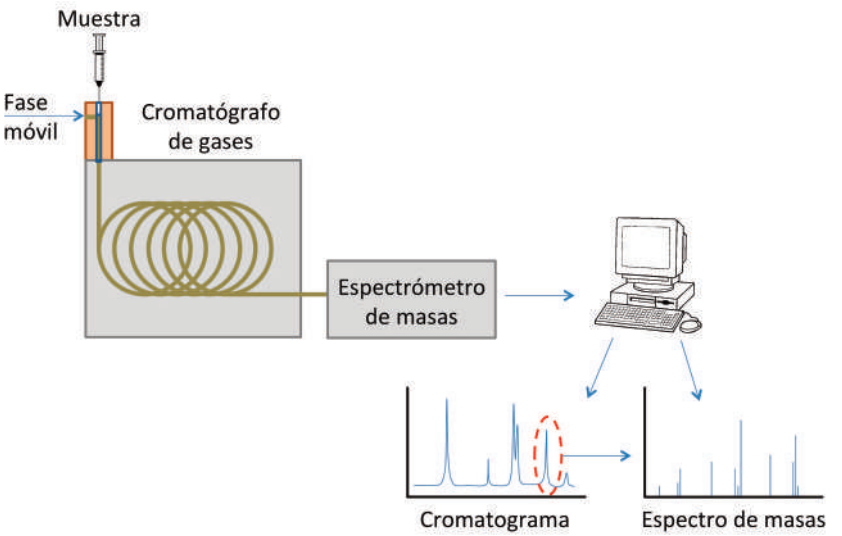


Figura 12.7
Esquema de un equipo híbrido CG-EM

PARA SABER MÁS

Espectrometría de masas en tándem

La espectrometría de masas en tándem consiste en la aplicación sucesiva de dos o más analizadores. Entre cada dos analizadores debe existir un módulo de ionización que origine nuevos fragmentos iónicos a partir de alguno de los producidos en la etapa anterior.

Uno de los sistemas tándem más frecuentemente usados consiste en un triple cuadripolo; el primero analiza los iones formados en la cámara de ionización, el segundo induce la formación de nuevos fragmentos iónicos y los dirige hacia el tercer cuadripolo que analiza los nuevos iones producidos (figura 12.8).

Estos sistemas presentan una elevada capacidad para la identificación de compuestos en mezclas complejas y para la elucidación estructural de compuestos desconocidos.



Figura 12.8
Esquema de un espectrómetro de masas EM-EM (o EM_2) con triple cuadripolo

12.1.3. Características analíticas y aplicaciones

La espectrometría de masas ha tenido un notable desarrollo en épocas relativamente recientes. Se trata de una técnica de un cierto grado de sofisticación y complejidad instrumental, y que ofrece unas muy altas prestaciones analíticas. Aunque con el tiempo se ha vuelto más asequible desde el punto de vista económico, no es una técnica que por lo general esté presente en laboratorios que realizan análisis de rutina salvo en determinados ámbitos concretos.

La espectrometría de masas presenta importantes ventajas analíticas:

- Muestra una selectividad muy alta, ya que el sistema analizador actúa como un filtro que reduce las interferencias que puedan acompañar al analito de interés; por otra parte los espectros de masas actúan como "huellas dactilares" ya que los patrones de fragmentación aportan información prácticamente específica acerca de la masa y estructura molecular.
- Tiene una alta sensibilidad gracias a las prestaciones de los detectores que se emplean.
- Presenta unos requisitos mínimos en cuanto a cantidad de muestra líquida o sólida: del orden de miligramos a incluso menos de nanogramos.

Su capacidad de acoplamiento o hibridación con otras técnicas instrumentales (CG-EM, HPLC-EM) o las configuraciones en tándem potencian enormemente la capacidad de identificación de esta técnica.

La EM se puede emplear tanto para análisis cualitativo como cuantitativo. Además, es aplicable para el análisis elemental de especies químicas inorgánicas, así como para obtener información estructural de especies orgánicas.

A) Análisis cualitativo

A partir del espectro de masas es posible obtener directamente información cualitativa importante para la identificación de compuestos, como es la masa molecular. La alta resolución que se consigue con esta técnica permite incluso deducir la fórmula molecular a partir del dato anterior.

Asimismo, se puede obtener información estructural a partir de los patrones de fragmentación que exhiben los espectros de masas: la presencia de determinados picos es característica de la existencia de ciertos grupos concretos en la estructura de la especie estudiada.

La figura 12.9 muestra un espectro de masas de un alcano lineal con un patrón de fragmentación típico de la pérdida sucesiva de grupos metileno ($-CH_2-$) de una cadena alifática. El pico molecular aporta directamente el dato de la masa molecular de la especie estudiada. Los picos isotópicos pueden aportar información básica sobre la composición elemental del analito.

La comparación de los espectros obtenidos con los de compuestos de referencia almacenados en bases de datos informatizadas permite en ocasiones la identificación directa del analito.

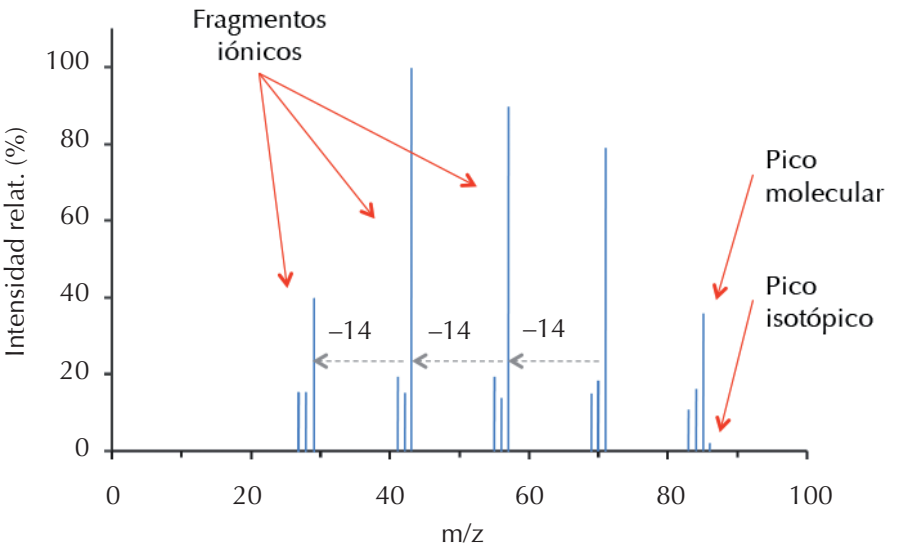


Figura 12.9
Ejemplo de espectro de masas típico de un alcano lineal

PARA SABER MÁS

Bibliotecas de espectros

Habitualmente se encuentran dos tipos de bibliotecas: unas de tipo general, muy extensas, y otras más pequeñas pero específicas de utilización en un campo muy concreto. Estas bibliotecas son asequibles comercialmente, pero casi siempre es posible para el usuario generar una biblioteca o hacer adiciones sobre una existente.

El procedimiento de identificación, basado en la comparación del espectro obtenido con los contenidos en una biblioteca no está exento de problemas; hay que partir de la base de que las condiciones experimentales se pueden controlar lo suficiente como para producir espectros reproducibles y que el patrón de fragmentación de un compuesto será único independientemente de las condiciones utilizadas. A pesar de que estos supuestos no son del todo ciertos, es posible muchas veces identificar analitos a partir de los espectros de una biblioteca.

B) Aplicaciones cuantitativas

En el caso de mezclas sencillas es posible la aplicación directa de la espectrometría de masas para cuantificar determinados componentes, a partir del registro de algún pico característico y único de un componente concreto. La cuantificación se realiza mediante curvas de calibrado

con patrones externos en las que se representa la altura de pico frente a la concentración del analito. Es habitual en esta técnica utilizar la calibración con patrón interno para aumentar la exactitud y precisión de los resultados.

Si no se puede contar con picos únicos para cada componente de interés, especialmente en el caso de instrumentos de baja resolución, se puede determinar la contribución de cada componente de la mezcla a diferentes picos mediante sistemas de ecuaciones. Para ello es necesario llevar a cabo una calibración analítica para cada uno de los componentes de la mezcla.

En el caso de mezclas más complejas, la hibridación de la EM con técnicas cromatográficas instrumentales (CG y HPLC) permite contar con una poderosa herramienta de análisis tanto cuantitativo como cualitativo. En este caso la EM actúa como sistema detector, aportando su altísima selectividad a la capacidad separativa de las técnicas cromatográficas.

12.2. Resonancia magnética nuclear

12.2.1. Fundamento

La resonancia magnética nuclear (RMN) se basa en la capacidad de absorber y emitir radiación electromagnética, concretamente radiofrecuencias, por parte de ciertos núcleos atómicos que pueden adoptar dos estados energéticos distintos inducidos por la presencia de un campo magnético.

En la clasificación de las técnicas instrumentales desde el punto de vista del fundamento, que se vio en el capítulo 1, esta técnica se encuadra en el grupo de las técnicas magnéticas, ya que es un campo magnético externo el que induce la formación de los estados energéticos entre los que va a tener lugar la absorción y emisión de radiación. Por otra parte, algunas fuentes bibliográficas la consideran una técnica espectroscópica ya que la señal que se genera procede de los fenómenos de absorción y emisión de radiación por parte de las moléculas de la muestra.

Ciertos núcleos atómicos presentan características magnéticas debidas a la carga eléctrica que poseen y al movimiento de rotación, es decir, poseen un *espín,* al igual que los electrones. Estos núcleos se comportan como pequeños imanes, ya que generan un pequeño campo magnético. Se incluyen en este grupo aquellos núcleos que tienen un número impar de protones o de neutrones. Entre los núcleos que presentan esta propiedad y que son más estudiados por RMN están los siguientes: ^{1}H, ^{13}C, ^{19}F y ^{31}P.

En estos núcleos el espín nuclear puede tomar dos valores numéricos característicos: +1/2 y −1/2. En ausencia de campo magnético externo los espines nucleares, y por tanto los momentos magnéticos de una población de núcleos, se orientan al azar. Cuando una población de núcleos de un determinado elemento químico con actividad magnética (por ejemplo, ^{1}H, cuyos núcleos se denominan comúnmente protones) se coloca en un campo magnético externo, los núcleos con espín positivo se orientan en la misma dirección que el campo magnético externo, en un estado de mínima energía, mientras que los núcleos con espín negativo lo hacen en dirección opuesta, en un estado de mayor energía (figura 12.10).

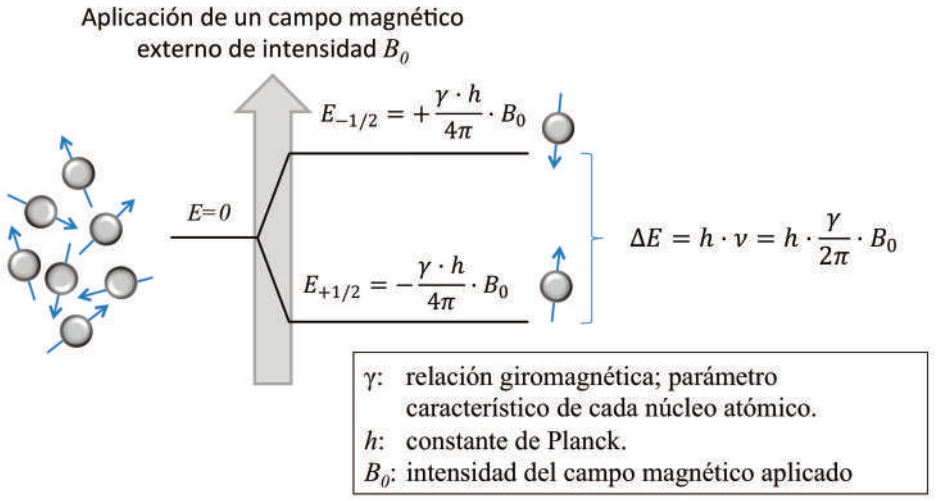

Aplicación de un campo magnético externo de intensidad B_0
$E_{-1/2} = +\frac{\gamma \cdot h}{4\pi} \cdot B_0$
E=0
$E_{+1/2} = -\frac{\gamma \cdot h}{4\pi} \cdot B_0$
$\Delta E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{\gamma}{2\pi} \cdot B_0$
γ: relación giromagnética; parámetro característico de cada núcleo atómico.
h: constante de Planck.
B_0: intensidad del campo magnético aplicado

Figura 12.10
Comportamiento de un núcleo con actividad magnética en el seno de un campo magnético externo

Cuando una muestra sometida a las condiciones descritas es irradiada con un pulso intenso de radiación electromagnética de frecuencia adecuada (en la región de las radiofrecuencias) los núcleos que se encuentran en el nivel inferior de energía pueden absorber esta radiación para promoverse hasta el nivel superior, cambiando así de espín nuclear. Cuando la muestra deja de ser irradiada los núcleos se relajan hasta el nivel inferior mediante la emisión de radiación de frecuencia correspondiente a la diferencia de energía entre los dos estados inducidos por el campo magnético externo. La medida de esta emisión inducida constituye la base de la RMN. Los núcleos pasan de un estado energético a otro por medio de la absorción y emisión de una determinada radiofrecuencia, efecto que se conoce como *resonancia*.

Cada núcleo de un determinado elemento que forma parte de una molécula está rodeado por un "entorno electrónico" distinto; la nube electrónica que rodea a cada núcleo actúa como una pantalla frente al campo magnético externo, de manera que el campo magnético que realmente afecta a cada núcleo es un poco más débil que el campo externo.

Así, por ejemplo, al realizar un barrido para recoger las señales emitidas por los protones de una determinada especie química, se obtendrán señales a frecuencias diferentes para cada protón, en función de su entorno químico (grupo funcional o parte de la estructura hidrocarbonada), o lo que es lo mismo, en función de su apantallamiento (figura 12.11). A este efecto se le denomina *desplazamiento químico*.

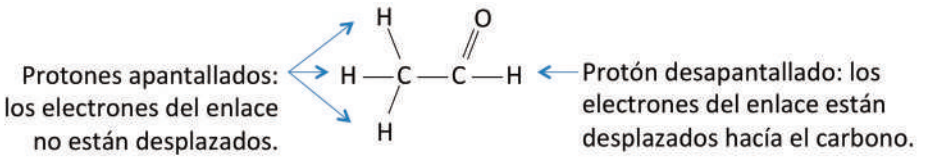

Protones apantallados: los electrones del enlace no están desplazados.
H
O
H—C—C—H
H
Protón desapantallado: los electrones del enlace están desplazados hacia el carbono.

Figura 12.11
Molécula de etanaldehído mostrando los distintos grados de apantallamiento a que están sometidos sus protones

La frecuencia de la radiación emitida depende tanto de la relación giromagnética, que es un parámetro característico de cada núcleo, como de la intensidad del campo magnético aplicado y no es fácil medir esta última con exactitud. Para cuantificar el desplazamiento químico de un núcleo con independencia del campo magnético externo a que esté sometido se compara su frecuencia de resonancia con la de un compuesto que se toma como referencia. En el caso de los protones se usa como referencia el tetrametilsilano (TMS): $(CH_3)_4Si$, fácilmente soluble en disolventes orgánicos. Todos los protones del TMS tienen el mismo entorno electrónico y un alto grado de apantallamiento. En disoluciones acuosas, donde el TMS no es soluble, se utiliza como patrón el ácido 3,3-dimetil-2,2-silapentano-5-sulfónico (o DSS).

El desplazamiento químico se simboliza como δ, sus unidades son ppm y se calcula de la siguiente forma:

$$\delta(ppm) = \frac{\nu_{muestra} - \nu_{referencia}}{\nu_{referencia}} \cdot 10^6$$

donde $\nu_{muestra}$ es la frecuencia de resonancia de cada señal originada por la muestra, y $\nu_{referencia}$ la frecuencia de resonancia de los protones del compuesto de referencia.

El desplazamiento químico así calculado tendrá el mismo valor con independencia del campo magnético o de la radiofrecuencia aplicada. En la bibliografía aparecen tabulados los valores del desplazamiento químico que corresponde a los diferentes núcleos activos en RMN en función de su entorno químico o grupo funcional al que pertenecen.

Los espectros de RMN se pueden registrar manteniendo constante el campo magnético externo y realizando un barrido de radiofrecuencias (esta es la opción habitual en los equipos modernos) o bien manteniendo fija la frecuencia de la radiación y variando el campo magnético. El desplazamiento químico 0 corresponde al compuesto de referencia (TMS en el caso de la RMN del protón) y se coloca por convenio a la derecha del eje de abscisas; hacia la izquierda aparecen los desplazamientos mayores, que corresponden a menor apantallamiento, lo que implica que la frecuencia de resonancia es mayor o bien la resonancia se produce a un valor de campo magnético efectivo de menor intensidad que en el caso del compuesto de referencia.

La figura 12.12 muestra un espectro RMN-^{1}H de baja resolución del etanol. La posición de cada pico es característica del apantallamiento que sufre cada uno de los tres tipos de protones presentes en la molécula. El área bajo cada pico es proporcional a la cantidad de protones de cada tipo.

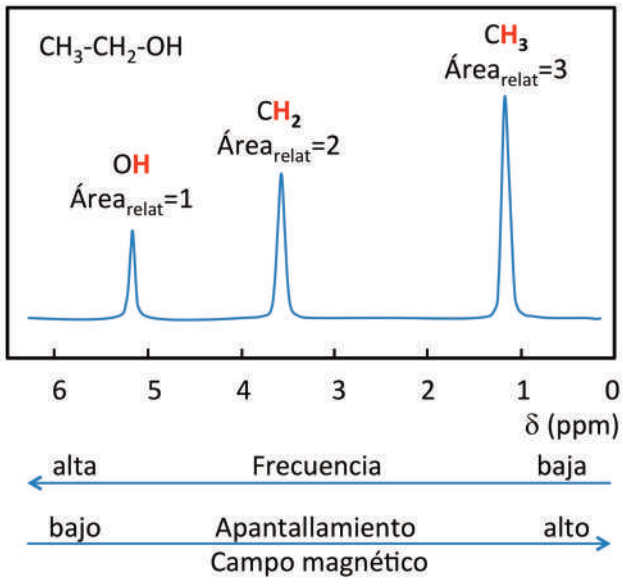


Figura 12.12
Espectro RMN de baja resolución del etanol

PARA SABER MÁS

Estructura fina de un espectro RMN

Cuando los espectros RMN se realizan a alta resolución se aprecia que muchas de las líneas presentan un desdoblamiento en grupos denominados multipletes:

Estos desdoblamientos se deben a la interacción entre grupos de núcleos adyacentes. En el caso de la RMN del protón, un número *n* de protones equivalentes produce una multiplicidad de *n* + 1 en el pico correspondiente a los protones adyacentes.

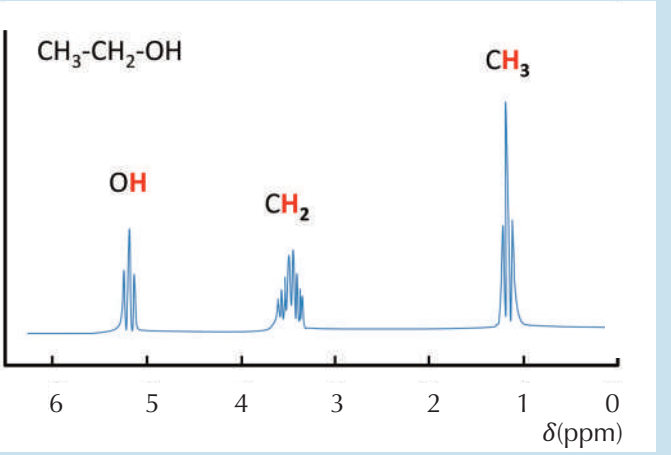


Figura 12.13
Espectro de alta resolución del etanol, mostrando la estructura fina de los picos

En el espectro de alta resolución del etanol (figura 12.13) se puede apreciar cómo los dos protones del grupo metileno (–CH_2–) producen un desdoblamiento de la señal de los protones vecinos (en el grupo metil, CH_3–, y en el hidroxilo, –OH) dando lugar a sendos tripletes. Por otro lado, los protones del grupo metilo producen el desdoblamiento en un cuadruplete de la señal de los protones del grupo metileno, cada uno de los cuales es desdoblado a su vez por el protón del grupo hidroxilo en un doblete, dando lugar a un grupo de ocho picos.

De esta forma la estructura fina del espectro proporciona información sobre la ubicación relativa en la estructura de la molécula de ciertos grupos funcionales.

12.2.2. Instrumentación

Los módulos de que consta un instrumento de RMN son los siguientes (figura 12.14):

- Imán para producir el campo magnético en el que se produzca el desdoblamiento de los núcleos en función de su espín nuclear.
- Compartimento/sonda para la muestra.
- Transmisor de radiofrecuencias, para que tenga lugar la absorción a la frecuencia de resonancia por parte de cada núcleo.
- Detector para registrar la emisión de radiofrecuencias de los núcleos resonantes.
- Sistema informático para el control del instrumento, la adquisición y tratamiento de los datos, y la presentación y almacenamiento de espectros.

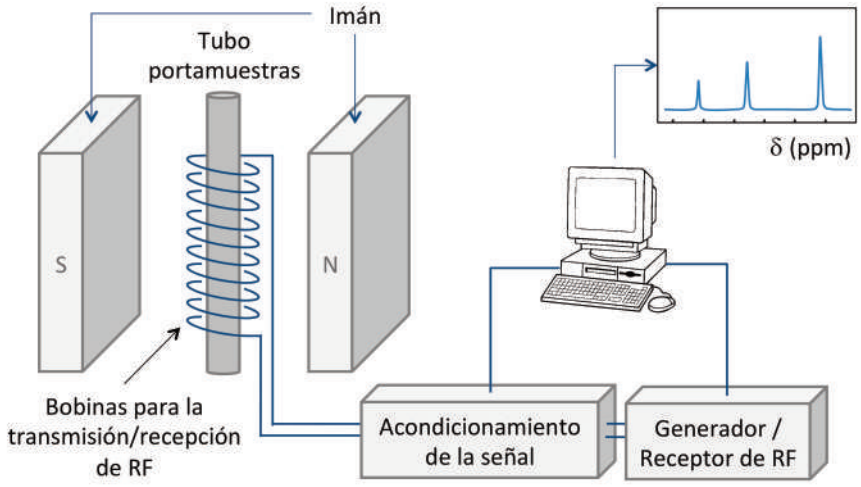


Figura 12.14
Esquema básico de un instrumento de RMN

El componente principal de un instrumento de RMN es el imán. La sensibilidad de esta técnica depende directamente de la intensidad del campo magnético aplicado, B_0, ya que cuanto mayor sea ésta, mayor es la proporción relativa de núcleos que permanecen en el nivel de menor energía, y por tanto mayor será la intensidad de la señal generada. Asimismo, la resolución del instrumento también aumenta con la intensidad del campo magnético. Por todo ello es ventajoso contar con imanes que generen un campo lo más intenso posible, que además debe ser homogéneo y reproducible. En los equipos más modernos y potentes se generan campos magnéticos de hasta 23 teslas (T).

PARA SABER MÁS

En la actualidad la mayor parte de los equipos actúan según un principio basado en la aplicación de las transformadas de Fourier: se aplica un campo magnético constante y se irradia la muestra con un pulso intenso de radiofrecuencias durante un intervalo adecuado de tiempo; esto equivale a la realización de un barrido en un cierto intervalo de frecuencias, de forma que cada núcleo absorbe la frecuencia necesaria para entrar en resonancia cambiando de estado de espín nuclear. Tras el pulso aplicado tiene lugar la emisión de radiofrecuencias por parte de la muestra, que pueden ser detectadas por la misma bobina generadora de radiofrecuencias que ahora actúa como receptor, generando una señal que va disminuyendo en función del tiempo a medida que los núcleos vuelven al estado de mínima energía. Una vez acondicionada esta señal es enviada a un ordenador donde se somete a una transformación de Fourier para proporcionar una intensidad en función de la frecuencia, y finalmente representar la intensidad en función del desplazamiento químico.

La RMN por transformadas de Fourier permite la obtención de espectros de alta resolución en muy poco tiempo (menos de 2 s) y con muy pequeñas cantidades de muestra (menos de 5 mg).

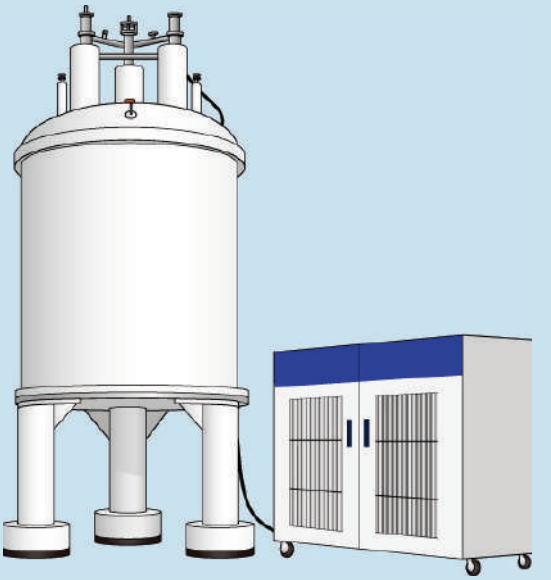


Figura 12.15
Instrumento de RMN

En los instrumentos de RMN el campo magnético se genera mediante imanes permanentes o bien mediante solenoides superconductores. Los imanes permanentes son sensibles a la temperatura, por lo que requieren de un sistema de termostatización. Presentan además problemas de deriva, por lo que no son adecuados para conseguir alta sensibilidad y resolución. Los imanes superconductores están constituidos por un solenoide de un material superconductor (niobio/estaño o niobio/titanio)

que se mantiene a baja temperatura (4 K) con ayuda de un doble encamisado con He y N líquido. Ofrecen una alta intensidad de campo magnético, gran estabilidad y pequeño tamaño.

Las muestras se incorporan en el interior de la sonda en tubos de vidrio de pequeño diámetro y capacidad en torno a 500 μL. A estos tubos se les incorpora una pequeña turbina que les permite rotar sobre su eje longitudinal por efecto de una corriente de aire, con la finalidad de que el campo afecte de manera homogénea a la muestra. La sonda mantiene el tubo portamuestras en una posición fija del campo magnético y alberga la bobina o bobinas para la transmisión y detección de radiofrecuencias. En muchos casos las sondas permiten además el control de la temperatura de la muestra.

El transmisor de radiofrecuencias está constituido por una bobina por la que se hace pasar una corriente eléctrica que crea un campo oscilante de radiofrecuencias.

El detector está constituido por una bobina similar a la anterior en la que las radiofrecuencias emitidas por la muestra inducen una corriente eléctrica que puede ser medida y amplificada. Algunos instrumentos están dotados de una bobina detectora para protones (^{1}H) y otra para núcleos como ^{13}C o ^{15}N.

La frecuencia de la radiación involucrada en la resonancia de los núcleos magnéticos depende de la intensidad del campo magnético aplicado, pudiendo oscilar entre los 30-40 MHz para los campos magnéticos menos intensos, hasta los 1000 MHz para los campos más intensos.

12.2.3. Características analíticas y aplicaciones

La técnica de RMN se aplica fácilmente a muestras en disolución e incluso a líquidos puros si tienen una viscosidad suficientemente baja. Los disolventes no deben proporcionar señal en la región del espectro en la que se analiza la muestra. En el caso de la RMN de ^{1}H se suelen utilizar como disolventes cloroformo, metanol, acetona o agua deuterados, en función del grado de polaridad de la muestra.

En la actualidad existen instrumentos que permiten la obtención de espectros RMN de alta resolución del ^{13}C en muestras sólidas.

La RMN se puede aplicar a la obtención de información cualitativa de compuestos que tengan núcleos atómicos con momento magnético no nulo, como es el caso de ^{1}H, ^{13}C, ^{19}F y ^{31}P, entre otros. De entre ellos el ^{1}H y el ^{13}C son los núcleos más importantes a los que se aplica esta técnica. Se trata de una herramienta de primer orden para la obtención de información cualitativa y estructural de especies orgánicas y organometálicas.

Un espectro RMN puede contribuir a la identificación de compuestos puros cuando se aplica en combinación con otras técnicas de análisis cualitativo (fundamentalmente análisis elemental, espectrometría de masas, espectroscopía IR y UV-vis).

Por su versatilidad y por la gran información que aporta, es la técnica más usada en la identificación de nuevos compuestos orgánicos. El rango de posibles aplicaciones es muy amplio, algunas de ellas son:

- Verificación del grado de pureza de materias primas.
- Análisis de drogas y fármacos.
- Desarrollo de productos químicos.

- Investigación de reacciones químicas.
- Identificación de sustancias desconocidas.
- Análisis de polímeros.

Esta técnica también es aplicable al análisis cuantitativo, teniendo en cuenta que el área bajo cada pico es proporcional al número de núcleos que lo originan. Sin embargo su coste y complejidad la hacen inapropiada para este tipo de aplicaciones, ya que tampoco aporta mayores prestaciones que otras técnicas instrumentales en este ámbito.

PARA SABER MÁS

La RMN como herramienta de diagnóstico clínico: IRM

Una de las aplicaciones más populares de la RMN en la actualidad se encuentra en el ámbito del diagnóstico clínico. Esta técnica permite obtener imágenes de múltiples secciones transversales a lo largo de un determinado eje, de forma que es posible reconstruir a partir de ellas imágenes tridimensionales de órganos y tejidos en el interior del cuerpo del paciente. Es lo que se conoce como imagen por resonancia magnética o IRM.

Esta técnica implica un riesgo prácticamente nulo en relación con otras técnicas de obtención de imágenes como los rayos X o la gammagrafía. Sí se debe tener en cuenta que el intenso campo magnético al que se somete al paciente impide que se pueda aplicar esta técnica a personas con algún tipo de implante en el que están presentes materiales conductores de la electricidad o ferromagnéticos.



Figura 12.16
Equipo de imagen por resonancia magnética (IRM)

Resumen

Este capítulo se centra en dos técnicas instrumentales clasificadas tradicionalmente como técnicas magnéticas.

En la EM la muestra es sometida a un proceso de ionización en el que las moléculas son ionizadas y en algunos casos fragmentadas en mayor o menor grado. Los iones formados son separados y posteriormente detectados basándose en las características diferenciales de su movimiento a lo largo del analizador de iones. Los tradicionales analizadores de enfoque magnético han ido cediendo paso a otros de mayores prestaciones, por lo que la consideración de la EM como técnica magnética se ha visto superada.

En la RMN la muestra es sometida a un intenso campo magnético que produce la disposición de ciertos núcleos con momento magnético en dos orientaciones posibles con respecto al campo magnético, que corresponden a dos estados energéticos distintos. Los núcleos activos magnéticamente pueden resonar entre ambos estados energéticos mediante la absorción y emisión de radiofrecuencias. La intensidad de la emisión puede ser medida y representada en un espectro en función de la frecuencia de resonancia. Debido a que las transiciones de los núcleos entre dos estados energéticos están asociadas con procesos de absorción y emisión de radiación, esta técnica se puede ver también encuadrada en el grupo de las técnicas espectroscópicas.

Ambas técnicas suministran información analítica cualitativa de gran interés para la elucidación estructural y la identificación de compuestos, especialmente en el ámbito de la química orgánica.

La EM presenta además la posibilidad de acoplamiento a técnicas de separación como la cromatografía de gases o de líquidos, dando lugar a una eficaz herramienta analítica.

Ejercicios propuestos

1. La espectrometría de masas requiere la aplicación de un alto vacío para impedir la interferencia de las moléculas del aire en el proceso de ionización. Busca información sobre los sistemas de vacío que se aplican habitualmente en EM: tipos de bombas, nivel de vacío, operaciones de control y mantenimiento, etc.
2. En la figura 12.10 aparece la fórmula que determina la diferencia de energía entre las dos posibles orientaciones de un determinado núcleo:

$$\Delta E = h \cdot \nu = h \cdot \frac{\gamma}{2\pi} \cdot B_0$$

A partir de esta fórmula es posible, para un núcleo dado, calcular las frecuencias de resonancia en función de la intensidad del campo magnético externo aplicado. Busca información acerca de la intensidad de los campos magnéticos que se aplican en los equipos disponibles actualmente y calcula las frecuencias de resonancia del protón (es necesario también conocer su relación giromagnética, γ) para diferentes intensidades de campo magnético.

3. Busca información acerca de los riesgos relacionados con la RMN, así como las medidas de protección que se deben aplicar.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. ¿Qué sistema analizador se cuenta entre los más habitualmente empleados en un espectrómetro de masas?:
   - ☐ *a)* Analizador de transformadas de Fourier.
   - ☐ *b)* Analizador de impacto electrónico.
   - ☐ *c)* Analizador cuadripolar.

2. En cuanto al tipo de información que puede proporcionar la espectrometría de masas…:
   - ☐ *a)* Sólo se puede obtener información cualitativa.
   - ☐ *b)* Se puede obtener información tanto cualitativa como cuantitativa.
   - ☐ *c)* Sólo se puede obtener información cuantitativa en el caso del acoplamiento de esta técnica con una técnica cromatográfica.

3. La frecuencia de resonancia que origina los espectros de RMN se encuentra en la región del espectro electromagnético correspondiente a…:
   - ☐ *a)* Infrarrojo.
   - ☐ *b)* Ultravioleta-visible.
   - ☐ *c)* Radiofrecuencias.

4. ¿Qué parámetro se representa habitualmente en el eje de abscisas de un espectro RMN?:
   - ☐ *a)* Frecuencia de resonancia.
   - ☐ *b)* Desplazamiento químico.
   - ☐ *c)* Número de onda.

5. En RMN los disolventes no deben proporcionar señal en la región del espectro en la que se analiza la muestra. ¿Cuál de los siguientes disolventes se utiliza para realizar análisis por RMN del protón?:

   ☐ *a)* Agua deuterada.
   ☐ *b)* Nitrógeno líquido.
   ☐ *c)* Tetrametilsilano.

SOLUCIONES:

1. a b **c**
2. a **b** c
3. a b **c**
4. a **b** c
5. **a** b c

Parte V

Técnicas instrumentales de separación

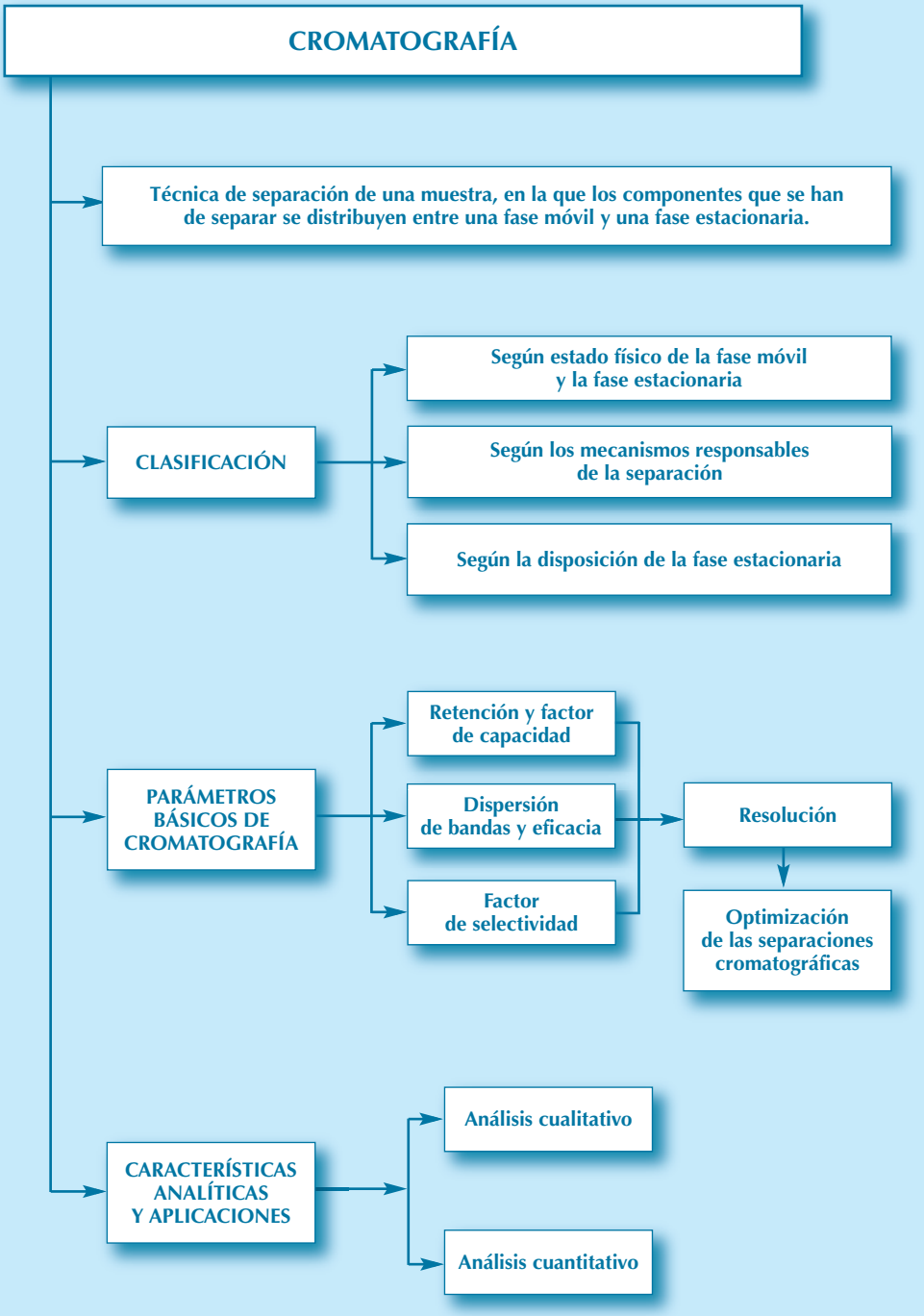
13

Introducción a las técnicas cromatográficas

Objetivos

1. Entender los fundamentos de las separaciones cromatográficas.
2. Distinguir las diversas técnicas cromatográficas de análisis.
3. Conocer los parámetros más importantes de la cromatografía.
4. Determinar la concentración de un analito a través de técnicas cromatográficas.
5. Obtener resultados cromatográficos e interpretarlos convenientemente.

Mapa conceptual del capítulo


CROMATOGRAFÍA
Técnica de separación de una muestra, en la que los componentes que se han de separar se distribuyen entre una fase móvil y una fase estacionaria.
CLASIFICACIÓN
Según estado físico de la fase móvil y la fase estacionaria
Según los mecanismos responsables de la separación
Según la disposición de la fase estacionaria
PARÁMETROS BÁSICOS DE CROMATOGRAFÍA
Retención y factor de capacidad
Dispersión de bandas y eficacia
Factor de selectividad
Resolución
Optimización de las separaciones cromatográficas
CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS Y APLICACIONES
Análisis cualitativo
Análisis cuantitativo

Glosario

Adsorción. Retención de una especie química por parte de los puntos activos de la superficie de un sólido, quedando delimitado el fenómeno a la superficie que separa las fases.

Banda. Región del lecho cromatográfico donde se localizan uno o más componentes de la muestra.

Electroforesis. Técnica de separación que se basa en la migración diferencial (en sentido y velocidad) de partículas cargadas en un campo eléctrico, a través de una matriz.

Elución. Proceso en el que la fase móvil se desplaza a lo largo de la fase estacionaria transportando los componentes que se van a separar.

Fluido supercrítico. Sustancia que se encuentra por encima de la temperatura y presión crítica. Posee propiedades de disolvente que se parecen a las de un líquido, pero también exhibe propiedades de transporte parecidas a las de un gas.

Fluoranteno. Hidrocarburo policíclico aromático, con fórmula molecular $C_{16}H_{10}$. Su nombre deriva de la fluorescencia que presenta a la luz ultravioleta. Es altamente carcinógeno.

Fuerzas de Van der Waals. Son fuerzas de atracción débiles que se establecen entre moléculas eléctricamente neutras, tanto polares como no polares.

Hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA). Son compuestos orgánicos que se componen de anillos aromáticos simples unidos. Se encuentran en el petróleo, en el carbón y como productos de utilización de combustibles. Algunos de ellos son carcinógenos, mutágenos y teratógenos.

Ruido de fondo. Son las pequeñas desviaciones de la señal analítica que se producen sobre la línea base en tiempos muy cortos, causadas por fluctuaciones de la corriente eléctrica, inestabilidad de algún componente instrumental, variaciones de temperatura u otros factores.

13.1. Introducción a la cromatografía

Una separación puede definirse como una operación que implica dividir una mezcla (muestra) en por lo menos dos partes de distinta composición, de forma que una de las fracciones se enriquece en un componente (el analito) con relación al resto. Así se consiguen los siguientes objetivos:

– *Mejorar la selectividad.* La aplicación directa de una técnica analítica a la muestra puede fracasar debido a la interferencia de otras especies con propiedades fisicoquímicas similares a las del analito, o que producen alteraciones en la señal de medida. Si se aísla el analito de interés del resto, lógicamente se evitan estos problemas.

– *Mejorar la sensibilidad*. Cuando la concentración del analito es muy baja (análisis de trazas), al aplicar un método analítico generalmente o no se obtiene señal, o la señal es tan pequeña que no puede ser distinguida del ruido de fondo. El uso de una técnica de separación, que transfiere el analito de interés a una nueva fase de un volumen mucho más bajo (hasta 10^{-5} veces más bajo), posibilita la aplicación satisfactoria de una técnica analítica gracias a la preconcentración lograda.

Dentro de las técnicas analíticas de separación pueden distinguirse dos tipos muy generales:

– Técnicas en las que la medición de la señal analítica se efectúa de manera discontinua respecto a la separativa (por ejemplo, precipitación).
– Técnicas que implican o pueden implicar la detección o determinación de los analitos de manera continua después de ser separadas (por ejemplo, cromatografía).

Actualmente las separaciones analíticas se realizan fundamentalmente por cromatografía y electroforesis.

La cromatografía comprende un conjunto importante y diverso de métodos que permiten separar componentes en mezclas, aun cuando los componentes estén íntimamente relacionados, lo que en muchas ocasiones resultaría imposible por otros medios. Los componentes que se han de separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales está en reposo mientras que la otra se mueve en una dirección definida. Inicialmente, la cromatografía era exclusivamente una técnica de separación, que luego se transformó a una técnica de análisis cuando se acopló con un sistema para monitorizar los componentes que se iban separando. Así, la cromatografía se ha convertido en una técnica analítica que permite la separación, identificación y cuantificación de los componentes separados.

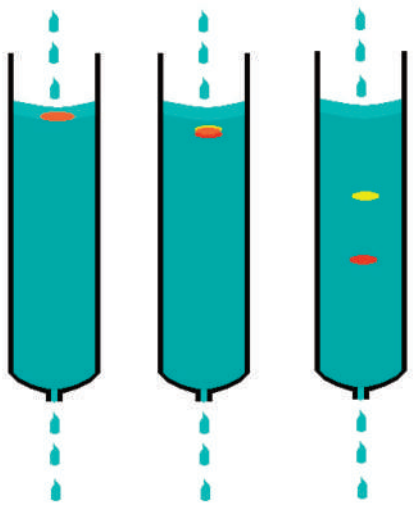


Figura 13.1
Ejemplo de separación cromatográfica

Las separaciones cromatográficas se efectúan haciendo pasar continuamente una fase, denominada móvil, sobre una segunda fase que permanece fija o estacionaria. La muestra se inyecta o se coloca en la fase móvil. A medida que se van desplazando junto con la fase móvil, los componentes de la muestra se reparten entre la fase móvil y la fase estacionaria. Las fases se eligen de forma que los componentes se distribuyan de diferente manera entre ambas. Las sustancias que son fuertemente retenidas por la fase estacionaria se mueven más lentamente con el flujo de la fase móvil, mientras que las que son débilmente retenidas avanzan con mayor rapidez. La velocidad con que se mueve cada sustancia dependerá de su afinidad relativa por cada fase.

El fundamento del fenómeno cromatográfico se encuentra en la diferencia en alguna o algunas de las propiedades físicas o fisicoquími-

cas de los analitos que se van a separar: solubilidad, adsorción, volatilidad, tamaño, carga, reactividad química o bioquímica, etc. La mezcla de sustancias para separar se coloca en una situación experimental donde se exhiben bien dos de estas propiedades, o bien una de ellas por duplicado (solubilidad en dos líquidos diferentes, por ejemplo). Es muy improbable que dos especies presenten cuantitativamente el mismo par de propiedades físicas o fisicoquímicas frente a un sistema cromatográfico dado.Y es en estas diferencias, que pueden ser muy pequeñas, en las que se fundamenta la separación cromatográfica.

PARA SABER MÁS

Descubrimiento de la cromatografía

El botánico ruso Mikhail Tswett, en 1906, realizó un experimento que condujo al descubrimiento de lo que hoy se conoce como cromatografía. Colocó un extracto de pigmentos vegetales en la parte superior de una columna de vidrio rellena de tiza (carbonato de calcio). Al agregar éter con un poco de alcohol, observó que la mezcla original se separaba en diversas bandas coloridas que descendían a través de la columna a diferentes velocidades. De esta forma consiguió separar los pigmentos.

Tswett utilizó La palabra "cromatografía" para denominar a su método, que proviene del griego y significa "escribir en colores", porque cuando fue desarrollada los componentes separados eran colorantes. Curiosamente, otros piensan que en la mente de Tswett, cromatografía querría decir "escritura de Tswett", dado que su apellido significa en ruso "color".

13.2. Clasificación de las cromatografías

Las cromatografías se pueden clasificar atendiendo a varios criterios:

- *Según el estado físico de la fase móvil y la fase estacionaria:*

  a) *Cromatografía de líquidos.* La fase móvil es un líquido, y la fase estacionaria puede ser un sólido (cromatografía líquido-sólido), o bien un líquido inmiscible con la fase móvil, depositado en la superficie de un sólido (cromatografía líquido-líquido). La cromatografía líquida en la actualidad emplea generalmente partículas muy pequeñas para la fase estacionaria y una presión de entrada relativamente alta, denominándose entonces cromatografía líquida de alta eficacia o de alta presión (HPLC, por las siglas del término en inglés).
  b) *Cromatografía de gases*. La fase móvil es un gas inerte y la fase estacionaria un sólido (cromatografía gas-sólido) o un líquido retenido por un sólido inerte (cromatografía gas-líquido).
  c) *Cromatografía de fluidos supercríticos*. La fase móvil es un fluido supercrítico, y la fase estacionaria puede ser sólida o líquida.

- *Según los mecanismos físicos o químicos responsables de la separación de los componentes de la muestra:*

  a) *Cromatografía de adsorción*. Se usa una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida o gaseosa. Las sustancias pueden adsorberse en la superficie de las partículas sólidas de la fase estacionaria por fuerzas de Van der Waals. El equilibrio de adsorción/desorción de la sustancia entre la fase sólida y la fase móvil es la causa de la separación.
  b) *Cromatografía de reparto.* En la cromatografía de reparto la fase estacionaria es un líquido retenido sobre un soporte sólido. El analito se equilibra o reparte entre este líquido estacionario y una fase móvil líquida o gaseosa.
  c) *Cromatografía de intercambio iónico.* En este tipo de cromatografía se unen aniones o cationes covalentemente a una fase estacionaria sólida, de forma que adquiere una carga neta. Los iones de la muestra, de carga opuesta a los existentes en la fase estacionaria, son atraídos por esta última mediante fuerzas electrostáticas. La fase móvil es un líquido. Esta cromatografía se aplica a la separación de sustancias iónicas.
  d) *Cromatografía de afinidad*. Se utilizan interacciones altamente específicas entre un tipo de moléculas de la muestra y otras moléculas que se unen (inmovilizan) covalentemente a la fase estacionaria. Por ejemplo, puede inmovilizarse un tipo de anticuerpo; al pasar todos los componentes, sólo quedará retenida la proteína específica para dicho anticuerpo. Se requerirá posteriormente desalojar la molécula retenida; puede hacerse de varias maneras, por ejemplo cambiando el pH o la fuerza iónica.
  e) *Cromatografía de exclusión molecular (o filtración en gel)*. A diferencia de lo que ocurre en otras formas de cromatografía, en ésta no existen interacciones entre la fase estacionaria y los componentes de la muestra; la fase estacionaria actúa como un simple tamiz. La fase móvil, líquida o gaseosa, pasa a través de dicho tamiz, arrastrando los componentes a separar. Los poros son suficientemente pequeños para excluir las moléculas grandes, que son rápidamente eluidas por la fase móvil, a diferencia de las pequeñas, que penetran en dichos poros, siguiendo un camino más largo en su recorrido por la columna.

- *Según la disposición de la fase estacionaria:*

  a) *Cromatografía en columna*. La fase estacionaria está contenida en un tubo a través del cual se hace pasar la fase móvil. Esta se desplaza por capilaridad, gravedad o presión.
  b) *Cromatografía plana* (figura 13.2). La fase estacionaria se coloca en un soporte plano. La fase móvil es líquida, y su flujo se consigue por capilaridad o por capilaridad y gravedad. Pueden ser a su vez:

     – *Cromatografía en papel*. El papel actúa como fase estacionaria, o como soporte de algún líquido que hace entonces de fase estacionaria.
     – *Cromatografía en capa fina*. La fase estacionaria es un sólido finamente dividido o un líquido inmovilizado sobre un sólido colocado en un soporte plano, tal como una placa de vidrio o una lámina de aluminio.

Sólo la cromatografía de líquidos puede llevarse a cabo en columna o sobre superficies planas, la de gases y la de fluidos supercríticos necesariamente han de llevarse a cabo en columna.

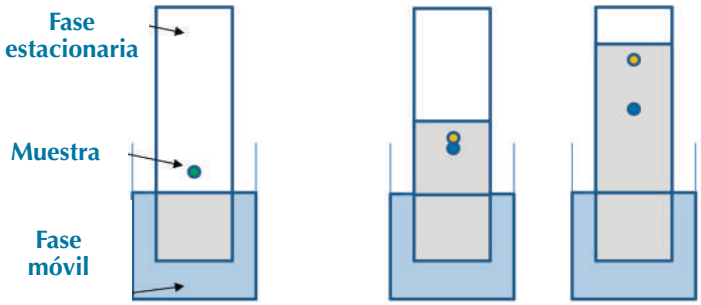


Figura 13.2
Separación de dos componentes mediante cromatografía plana

13.3. Parámetros básicos de cromatografía

Para definir los parámetros básicos de la cromatografía y estudiar sus características se va a considerar una separación cromatográfica en columna por elución. La elución implica el transporte de la muestra a través de la columna por adición sucesiva de fase móvil. Las sucesivas adiciones de fase móvil hacen que los constituyentes de la muestra sean arrastrados hacia la salida de la columna, a diferente velocidad, en una serie continua de transiciones entre la fase móvil y la estacionaria. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes se separan en bandas o zonas discretas. Si al final de la columna se coloca un detector que responda a la presencia de los diferentes componentes, se obtiene un cromatograma (figura 13.3).

El cromatograma es un gráfico que representa la respuesta del detector en función del tiempo de elución o del volumen eluido. La línea base corresponde a la respuesta del detector en ausencia de compuestos, y la aparición de un pico representa la elución de un componente de la muestra. La posición del pico aporta la información cualitativa y las áreas o alturas del pico información cuantitativa.

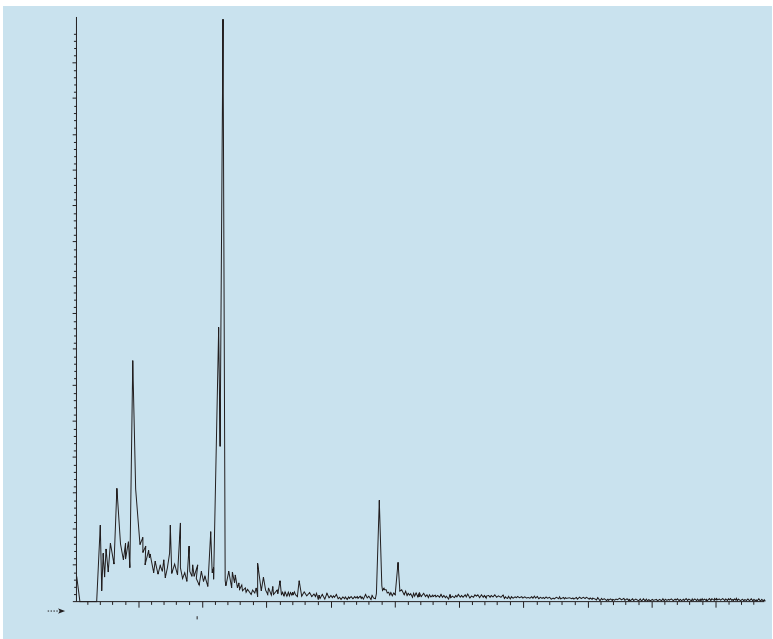


Figura 13.3
Ejemplo de cromatograma

A) Retención y factor de capacidad

Cuando se introduce una sustancia en la corriente de la fase móvil de un sistema cromatográfico, si no existe ningún tipo de interacción entre ésta y la fase móvil, la sustancia se desplazará a la misma velocidad que la fase móvil, y emergerá de la fase estacionaria cuando el volumen total de la fase móvil utilizado sea igual al volumen vacío de la fase estacionaria. Ese volumen se denomina volumen muerto. Sin embargo, como lo normal es que los componentes de la muestra interaccionen con la fase estacionaria, necesitarán para su elución un volumen mayor de fase móvil, que se denomina volumen de retención de la muestra. Si el caudal de la fase móvil es constante, igualmente se puede hablar de tiempo muerto y tiempo de retención:

- Tiempo muerto, t_M: es el tiempo que tarda en salir un componente que no se retiene.
- Tiempo de retención, t_R: es el tiempo que tarda en salir un determinado componente.
- Retención: capacidad real de la fase estacionaria para retardar la salida de un componente.

El tiempo de retención corregido, t'_R, es el tiempo real que la fase estacionaria ha retrasado el avance de la sustancia, y será igual a:

$$t'_R = t_R - t_M$$

Todos estos tiempos se toman a partir de los máximos de los picos, que si no son puntiagudos, necesitan de una extrapolación, como se ve en la figura 13.4.

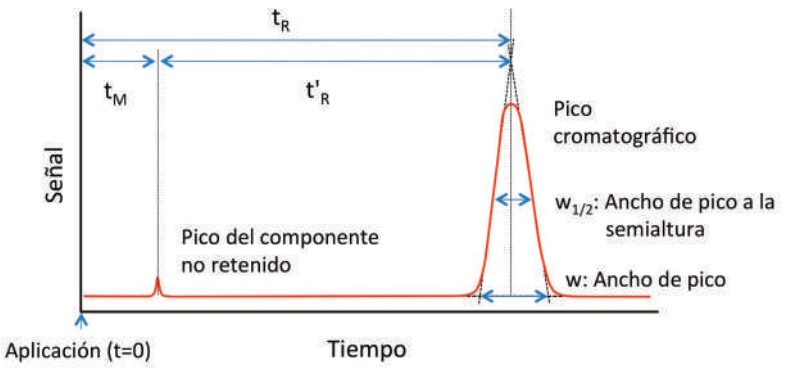


Figura 13.4
Cromatograma y parámetros característicos

Se define factor de capacidad (o factor de retención), K', como:

$$K' = \frac{t_R}{t_M}$$

El factor de capacidad es un factor adimensional, y es una medida de la fortaleza con que la fase estacionaria retiene a un componente dado. En cromatografía de líquidos depende de la composición de la fase móvil y la fase estacionaria, y en cromatografía de gases depende de la temperatura y del empaquetado de la columna. Por el contrario, es independiente de la velocidad de flujo de la fase móvil y de las dimensiones de la columna, y puede usarse para comparar retenciones en instrumentos diferentes. Los factores de retención grandes favorecen una buena

separación, pero también incrementan el tiempo de elución y el ancho de pico. Los valores de los factores de capacidad para una separación óptima deben encontrarse entre 2 y 5. Valores mucho más altos alargarían demasiado los tiempos de separación.

EJEMPLO 1

Al realizar una cromatografía en columna, la fase móvil tarda 2,5 minutos en atravesarla, y un componente de la muestra presenta un tiempo de retención de 7,5 minutos. Calcular el factor de capacidad de dicho componente.

$$t'_R = t_R - t_M = 7{,}5 - 2{,}5 = 5 \ minutos$$

$$K' = \frac{t'_R}{t_M} = \frac{5}{2{,}5} = 2$$

B) Dispersión de bandas y eficacia

Al introducir una mezcla de componentes en una columna cromatográfica, la mezcla va pasando desde un extremo a otro; los compuestos se van separando y se forman bandas para cada uno de ellos, que según avanzan se van ensanchando y separando unas de otras. Esto es debido fundamentalmente a la difusión de las moléculas de la banda, que tienden a distribuirse uniformemente en todo el volumen disponible. A mayor tiempo, mayor dispersión de banda habrá (figura 13.5).

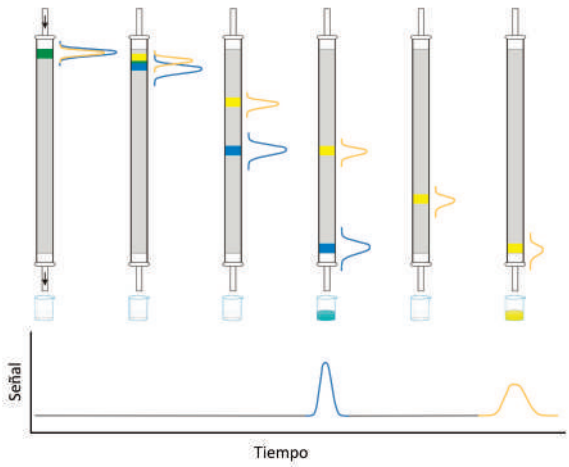


Figura 13.5
Separación de componentes en una columna

Dado que los procesos de difusión de las moléculas tienen su fundamento en movimientos al azar, la concentración final de las moléculas dentro de la banda cromatográfica adoptará idealmente una distribución normal o gaussiana. El registro de las concentraciones del componente, mediante un detector, en función del volumen eluido o del tiempo, dará lugar a un perfil gaussiano, cuya anchura vendrá definida por la desviación estándar de la dispersión.

PARA SABER MÁS

Asimetría de picos

Hay que considerar que el comportamiento ideal de una sustancia en una situación cromatográfica, no siempre se produce, dando lugar a picos asimétricos. A veces se presentan frontales, que significa que hay prolongaciones iniciales del pico, y que generalmente se debe a la inyección de una cantidad excesiva de muestra, y otras veces se producen colas, que son prolongaciones finales del pico cromatográfico, generalmente debidas a la presencia de lugares muy activos en la fase estacionaria.

Cuanto más agudos o menos anchos sean los picos que emergen de una columna, significará que más eficaz es dicha columna, porque se están separando adecuadamente los componentes. Si las bandas se ensanchan, se podrán resolver o separar menor número de componentes en un intervalo de tiempo dado.

La eficiencia de la columna, y por tanto la anchura de la banda cromatográfica, depende de las características de dicha columna, tales como tamaño de las partículas de la fase estacionaria u homogeneidad de ésta, pero también de otros factores, como la velocidad y viscosidad de la fase móvil, y la temperatura de trabajo.

C) Factor de selectividad

La selectividad es la capacidad de la columna para separar dos sustancias, y se mide con el factor de selectividad, σ, definido como la relación entre los factores de capacidad de las sustancias que se van a separar, A y B:

$$\sigma = \frac{K'_B}{K'_A}$$

En la fórmula, A es siempre el componente que tiene un tiempo de retención más corto, por lo que el factor de selectividad será 1, si los tiempos de retención son idénticos, o mayor que uno cuando no lo son.

D) Resolución

La resolución es el parámetro que expresa el grado de separación que se puede obtener en un sistema cromatográfico para dos componentes dados. La resolución puede observarse directamente sobre el cromatograma; se tendrá una buena resolución si los picos no se solapan y están perfectamente delimitados, sin que coincida el final de uno con el principio del siguiente.

PARA SABER MÁS

Número de platos teóricos

Un modelo para explicar la eficacia de una columna es el del número de platos teóricos. Este modelo supone que la columna cromatográfica contiene gran número de capas o secciones separadas, llamadas platos teóricos. Los equilibrios para la separación de la muestra entre la fase estacionaria y la fase móvil tienen lugar en estos supuestos platos.

Los platos son un concepto imaginario que ayuda a entender el funcionamiento de los procesos de separación en la columna. El modelo proporciona una medida de la eficacia de la columna, que se puede expresar como el número de platos teóricos de una columna (*N*): cuanto mayor sea el número de platos teóricos de una columna más eficiente será. E igualmente, a menor altura (*H*) del plato teórico, mayor eficiencia, porque habrá más platos. Estos conceptos están relacionados de la siguiente forma:

$$H = \frac{L}{N}$$

siendo *L* la longitud de la columna.

El número de platos teóricos que posee una columna se puede calcular a través del tiempo de retención (t_R) y la anchura (*w*) del pico cromatográfico de un compuesto determinado después de su elución. Este compuesto generalmente presenta una buena separación y un pico cromatográfico con forma gaussiana:

$$N = 16\left[\frac{t_R}{w}\right]^2$$

Muchas casas comerciales utilizan el número o la altura de platos para evaluar la eficacia de las columnas. No obstante, como se ha dicho, se trata de un concepto artificial, en la columna no existen realmente dichos platos. De hecho, el número de platos teóricos dependen tanto de las propiedades de la columna como de las de la sustancia que se va a separar. Por tanto, el número de platos teórico de una columna dada no es fijo, y puede variar de unos componentes a otros.

Para que estos parámetros sean útiles realmente en la comparación de dos columnas, es esencial que se hayan determinado utilizando el mismo compuesto.

Para calcular la resolución, *R*, entre dos picos cromatográficos A y B, se utiliza la siguiente fórmula:

$$R = \frac{t_{R,B} - t_{R,A}}{(w_B + w_A)/2} = \frac{2\Delta t_R}{w_B + w_A}$$

donde t_R es el tiempo de retención, y w_A y w_B son las anchuras de la base de los picos cromatográficos.

PARA SABER MÁS

Resolución

Evaluando un cromatograma se observa que si el valor de la resolución está próximo a 0,7 se obtendrá una mala resolución quedando los picos solapados, de forma que se distinguen las crestas, pero no la base, y si el valor de la resolución está próximo a 1,5 se conseguirán unos picos bien delimitados por lo que se obtendrá una buena resolución.

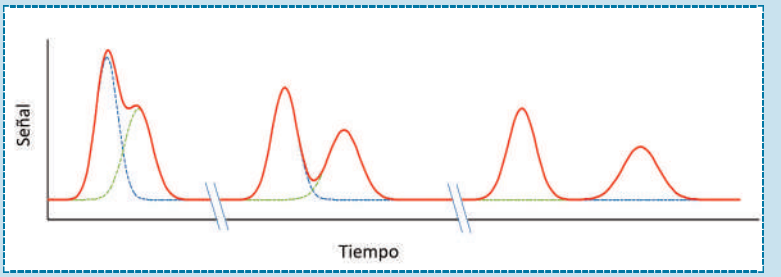


Figura 13.6
Ejemplos de resolución cromatográfica

EJEMPLO 2

En un análisis cromatográfico de una mezcla de dos componentes, A y B, el tiempo de retención del componente A es de 6,39 minutos, con una anchura de base de 0,86 minutos, mientras que el componente B eluye a los 7,57 minutos con una anchura de base de 0,54 minutos. Calcular la resolución entre los picos.

$$R = \frac{2\Delta t_R}{w_B + w_A} = \frac{2 \cdot (7{,}57 - 6{,}39)}{0{,}86 + 0{,}54} = 1{,}69$$

Como la resolución obtenida es superior a 1,5, los dos picos se resuelven bien.

E) Optimización de las separaciones cromatográficas

Hay tres parámetros fundamentales que determinan la resolución de una separación cromatográfica: la eficiencia de la columna (expresada en número de platos teóricos), el factor de capacidad y la selectividad.

En general, es recomendable intentar maximizar estos tres parámetros, existiendo varias estrategias para ello:

– Para aumentar el número de platos teóricos y con ello la eficiencia, lo más fácil es aumentar la longitud de la columna, pero eso también incrementaría el tiempo de análisis, y además los picos se ensancharían. El aumento en el número de platos también se puede conseguir reduciendo el tamaño de las partículas de la fase estacionaria. Los picos se es-

trecharán (menor ancho de banda) y los tiempos de retención no variarán pero se resolverán los picos. El inconveniente es que la presión de trabajo deberá ser mayor. La opción más factible es ajustar la velocidad de la fase móvil. Según el sistema cromatográfico, habrá una velocidad óptima de fase móvil que consigue la menor altura de los platos, y por tanto la mayor eficacia, a igualdad del resto de condiciones.

- El aumento del factor de capacidad o retención se consigue cambiando la composición de la fase móvil, la superficie de interacción de la fase estacionaria o la temperatura de elución.
- La selectividad puede aumentarse modificando la composición de la fase móvil, cambiando la fase estacionaria, o trabajando a otra temperatura. La selectividad puede ser manipulada de modo muy similar al factor de retención porque depende de él; la diferencia es que mientras éste contempla las características termodinámicas de un solo pico, la selectividad lo hace de los dos a separar.

PARA SABER MÁS

Modificación del factor de retención

El aumento del factor de retención para mejorar la resolución puede hacer que el tiempo de retención para algunos componentes resulte extremadamente largo. Una solución a este problema consiste en hacer ajustes crecientes del factor de capacidad a lo largo del tiempo de elución. Así, las condiciones cromatográficas iniciales se ajustan para favorecer la resolución de los componentes con tiempos de retención cortos, distanciándolos un poco. A medida que avanza la separación, se van cambiando las condiciones para disminuir los tiempos de retención de los componentes de elución tardía.

Para realizar este ajuste en cromatografía gaseosa se utiliza la programación de temperatura. En la cromatografía líquida se va aumentando la fuerza de la fase móvil, lo que se conoce como elución en gradiente.

13.4. Características analíticas y aplicaciones

La cromatografía es una técnica rápida, sencilla, relativamente de bajo coste y con una gran aplicabilidad como herramienta de separación. Además, se puede emplear para la identificación cualitativa y para la determinación cuantitativa como se verá a continuación.

A) Análisis cualitativo

La cromatografía, a efectos analíticos, es una técnica ciega. Los métodos cromatográficos pueden informar, como mucho, del número de compuestos químicos existente en una mezcla (según el número de picos que aparezcan en el cromatograma), pero no pueden aportar información sobre su naturaleza.

El cromatograma proporciona sólo un elemento de información cualitativa: el tiempo de retención (o la posición en la fase estacionaria tras un tiempo de elución si se trata de cromatografía plana). Se trata de una información pobre si se compara con otras técnicas, por ejemplo, las espectroscopías. Este parámetro solo es válido para unas condiciones de análisis dadas, por lo que la identidad del compuesto detectado solo puede ponerse en evidencia con la utilización de un patrón, sometido exactamente a las mismas condiciones. Existen recopilaciones de parámetros de retención de muchas sustancias, pero solo tienen un valor puramente orientativo, ya que es muy difícil reproducir los datos de retención de un laboratorio a otro, e incluso dentro del mismo laboratorio, debido a la irreproducibilidad de los sistemas cromatográficos.

Por tanto, la cromatografía podrá usarse para reconocer la presencia o ausencia de componentes en mezclas que contengan un número limitado de posibles especies de las que se conozca su identidad. También proporciona la evidencia segura de la ausencia de ciertos compuestos: si en la muestra no aparece un pico con el mismo tiempo de retención que el patrón, analizado en las mismas condiciones, se puede asumir que dicho compuesto está ausente (o que su concentración está por debajo del límite de detección del procedimiento).

PARA SABER MÁS

Detectores espectroscópicos en cromatógrafos

Un análisis cromatográfico podría dar una amplia información cualitativa si se escoge el sistema de detección adecuado. Por ejemplo, si el detector permite obtener un espectro de cada compuesto separado y, a su vez, el equipo cuenta con una una biblioteca de espectros con la que se puede realizar la comparación, se podría establecer de forma muy precisa la identidad de los componentes de la muestra. Esto se consigue con cromatógrafos que disponen de detectores de infrarrojos, de resonancia magnética nuclear o de masas. Sin embargo, estos sistemas son muy costosos, y por ello la mayoría de los laboratorios cuentan con cromatógrafos con sistemas de detección más sencillos, que aportan como única información cualitativa el tiempo de retención.

B) Análisis cuantitativo

El análisis cuantitativo está basado en la medida de la altura o el área del pico cromatográfico del analito, que se compara normalmente con la altura o el área de uno o más patrones inyectados bajo las mismas condiciones cromatográficas.

La medida de la altura de pico es fácil, pero solo aporta una exactitud razonable cuando los picos son agudos, estrechos, están bien definidos y son simétricos. Es aplicable a análisis de rutina, donde la sencillez y rapidez son importantes, en detrimento de la exactitud.

La medida del área de los picos es el método más general en las determinaciones cuantitativas. Existen muchos métodos para la medida del área del pico, pero el más utilizado con diferencia en la actualidad es la integración electrónica. Si no se dispone de un integrador, un método

muy sencillo que da buenos resultados con picos estrechos y simétricos consiste en multiplicar la altura del pico por su anchura a la mitad de su altura.

Para llevar a cabo un análisis cuantitativo de los componentes separados de una muestra existe una gran variedad de métodos:

B.1. *Calibración directa, absoluta, o de patrón externo*

El método de calibración más sencillo consiste en el empleo de patrones externos, como ya se ha visto en capítulos anteriores. La muestra debe prepararse convenientemente y se inyecta en el sistema de la misma forma que los patrones. Es un requisito imprescindible que se inyecte el mismo volumen para la muestra que para los patrones.

A veces en cromatografía se hace el análisis con un solo patrón; sabiendo que la señal para el patrón, S, es proporcional a su concentración, C:

$$S = k \cdot C$$

Tras analizar el patrón se puede conocer la constante de proporcionalidad, k, y con la señal obtenida de la muestra se puede conocer su concentración.

Siguiendo el método de la calibración con patrones externos se tiene como fuente de error más importante la irreproducibilidad en la inyección de un volumen muy pequeño de disolución.

EJEMPLO 3

Para analizar los hidrocarburos policíclicos aromáticos (HPA) en un suelo, se pesan 2,520 g de suelo seco y se extraen los HPA con 25,00 mL de un disolvente adecuado. Se filtra, y se toma 1 mL del extracto y se diluye a 10 mL en un matraz aforado. De esta dilución se toman 5 µL y se inyectan en un equipo de HPLC obteniéndose una señal de 0,218. Cuando se analizan en las mismas condiciones 5 µL de un patrón de 20,00 mg/L de fluoranteno, la señal medida es de 0,259. Indicar la concentración de HPA en el suelo, en mg de fluoranteno/g suelo.

$$S = k \cdot C$$

Sustituyendo los valores conocidos para el patrón, se obtiene el valor de k:

$$k = \frac{S}{C} = \frac{0,218}{20,0\ mg/L} = 0,0109 L/mg$$

Usando este valor de k, y con la señal obtenida para la muestra inyectada, se calcula su concentración:

$$C = \frac{S}{k} = \frac{0,259}{0,0109\ L/mg} = 23,76\ mg/L$$

Y la concentración en la muestra original será:

$$23,76 \frac{mg}{L} \cdot \frac{1L}{1000\ mL} \cdot \frac{10\ mL}{1\ mL} \cdot \frac{25\ mL}{2,510\ g} = 2,357\ mg\ fluoranteno/g\ suelo$$

B.2. *Método del patrón interno o de calibración relativa*

El método del patrón interno permite que varíen las condiciones de operación entre muestra y muestra y no requiere de repetibilidad en las inyecciones. El patrón interno debe ser un compuesto que puede resolverse completamente de los picos adyacentes, que no esté presente en la muestra que se va a analizar y que no produzca ningún efecto interferente.

Se preparan los patrones y a cada uno de ellos se le añade una cantidad exactamente conocida de patrón interno. El parámetro analítico en este método va a ser la relación de las áreas (o alturas) del pico del analito y del pico del patrón interno. De este modo, se compensan las variaciones en el volumen de muestra inyectado. Por tanto, se calculan los cocientes "área de componente/área de patrón interno" para cada patrón (o alturas), y se representan frente al cociente "cantidad de componente/cantidad de patrón interno" obteniéndose la curva de calibrado.

A continuación se añade el patrón interno a la muestra, y se obtiene el cromatograma. Con el cociente entre las áreas (o alturas) del pico de componente que se va a determinar y la de patrón interno en la muestra problema, y haciendo uso de la gráfica anterior determinada con estándares, se obtiene el cociente entre cantidad de componente y cantidad de patrón interno. Como la cantidad de patrón interno añadida a la muestra problema es conocida, puede calcularse la cantidad desconocida de componente.

Cualquier variación en el tamaño de la muestra se evidenciará inmediatamente al comparar el área del pico del patrón interno en cromatogramas diferentes pero no afectará al resultado.

B.3. *Método de la normalización de las áreas*

Cuando se sabe que el cromatograma representa la muestra completa, que todos los componentes se han separado y que cada pico se ha resuelto completamente, se puede utilizar la normalización de las áreas para la evaluación. Permite establecer el porcentaje de cada componente en la muestra.

Para utilizar este método, se mide el área bajo cada pico individual. Sumando todas estas áreas se obtiene el área total. El porcentaje de cada componente se calcula dividiendo su área entre el área total y multiplicando por 100. Por ejemplo, para calcular el porcentaje del componente A:

$$\%A_A = \frac{\acute{A}rea\ de\ A}{\acute{A}rea\ total} \cdot 100$$

El método solo es válido si el factor de respuesta de todos los componentes es el mismo, es decir iguales cantidades de distintos componentes dan la misma área. En otro caso las áreas deberían ser corregidas por un factor de respuesta para cada componente.

PARA SABER MÁS

Cálculo del factor de respuesta

El cálculo de factor de respuesta para cada componente se realiza experimentalmente de la siguiente forma. Se pesa una cantidad exactamente conocida del patrón del analito que se va a estudiar, W_A, se determina su área en el cromatógrafo, A_A y luego se realiza el cálculo:

$$(F_R)_A = \frac{W_A}{A_A}$$

Una vez obtenido el factor de respuesta para cada componente que forma la muestra, se calcula el porcentaje de cada uno de ellos, pero multiplicando primero cada área por el factor de respuesta:

$$\%A_A = \frac{A_A \cdot (F_R)_A}{\Sigma A_n \cdot (F_R)_n} \cdot 100$$

B.4. *Método de adición estándar*

Este método, ya visto en capítulos anteriores, también puede aplicarse en cromatografía.

Resumen

La cromatografía comprende un conjunto importante y diverso de métodos que permiten separar componentes de mezclas complejas. Cuando se acopla con un detector, permite la separación, identificación y cuantificación de los componentes separados. El análisis cualitativo no tiene tanto valor como en otras técnicas instrumentales, pero el análisis cuantitativo sí, pudiéndose seguir varios procedimientos para llevar a cabo la cuantificación de las sustancias separadas.

La separación cromatográfica se efectúa haciendo pasar continuamente una fase móvil sobre una estacionaria. Con el desplazamiento de la fase móvil, los componentes se reparten entre las dos fases. Según sus propiedades, las velocidades de migración serán diferentes, consiguiéndose la separación.

Las cromatografías se pueden clasificar según el estado físico de la fase móvil y la fase estacionaria, según los mecanismos físicos o químicos responsables de la separación de los componentes, o según la disposición de la fase estacionaria. Los parámetros más importantes que se han de tener en cuenta en una cromatografía son el factor de capacidad, la eficacia, el factor de selectividad y la resolución.

Práctica n.º 15

Separación en columna cromatográfica de una mezcla de tintas

Objetivos

- Saber preparar una columna para cromatografía de líquidos.
- Realizar una separación cromatográfica, visualizando el proceso.
- Interpretar resultados de un detector aplicado a las fracciones eluidas.

Procedimiento

Muestra. Disolución de una mezcla de tinta negra, azul y marrón en etanol, conteniendo aproximadamente 0,05 g/L de cada tinta. No usar tinta en forma de gel.

Fase móvil. Mezcla de n-butanol, etanol y amoniaco 2N (60:20:20).

1. **Preparación de la columna.** Colocar en la base de la columna lana de vidrio o algodón, y a continuación un círculo de papel de filtro del diámetro de la columna. Adicionar alúmina o sílica poco a poco formando un depósito homogéneo, con una altura de 10-12 cm. Adicionar 15 mL de etanol, manteniendo abierta la columna, pero evitando que el nivel de etanol descienda por debajo del nivel superior de la fase estacionaria. Cerrar la llave cuando el nivel de etanol esté aproximadamente a un milímetro de la superficie de la fase estacionaria.
2. **Separación de los componentes de la muestra.** Adicionar 0,2 mL de la muestra problema, sin alterar la fase estacionaria. Abrir la llave y dejar gotear hasta que el nivel de la muestra llegue a la fase estacionaria. Proceder a eluir, adicionando la fase móvil a un flujo de 2 mL/min aproximadamente. Ir recogiendo la fase móvil por la parte inferior de la columna en porciones de 1 mL en tubos de centrífuga pequeños dispuestos en una gradilla (marcar exactamente en el tubo hasta donde llega un mililitro, para que todas las porciones sean iguales).
3. Una vez eluida toda la muestra, en un espectrofotómetro de UV/vis medir la absorbancia de cada fracción recolectada en un intervalo de 450 a 665 nm, empleando la fase móvil como blanco. Representar gráficamente la absorbancia máxima medida en el intervalo propuesto en función del número de mililitros de fase móvil.

Notas

1. Usar una columna de 15 cm de largo.
2. El polvo de alúmina puede originar irritación de los ojos y tracto respiratorio superior. Manipular con las debidas medidas de seguridad.
3. La fase móvil utilizada puede irritar ojos, piel y tracto respiratorio. Trabajar en campana.

Práctica n.° 16

Estudio de analgésicos comerciales por cromatografía en capa fina

Introducción

Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina (CCF) es un método muy versátil de análisis cromatográfico para la separación e identificación de sustancias químicas.

En la cromatografía de capa fina un adsorbente se deposita en forma de una capa delgada sobre una placa de vidrio, aluminio u otros materiales, constituyendo la fase estacionaria. Por dicha capa irán ascendiendo, arrastradas por un disolvente o una mezcla de ellos (fase móvil) las sustancias que se quieren separar. El disolvente asciende por capilaridad, arrastrando a los compuestos a diferentes velocidades, según el grado de adsorción de éstos a la fase estacionaria y su afinidad por el eluyente, produciéndose así su separación (en forma de manchas).

Generalmente, la fase estacionaria es un componente polar y la fase móvil es menos polar, de manera que los componentes que se desplazan con mayor velocidad son los menos polares. Dentro de los adsorbentes o fases estacionarias más comunes para CCF se encuentran: el gel de sílice, el cual se usa en el 80% de las separaciones; el óxido de aluminio o alúmina, disponible comercialmente en las formas ácida, neutra o básica; la celulosa; y las poliamidas. Los eluyentes más comunes para CCF son el acetato de etilo, cloroformo, hexano, acetona, etanol, metanol e isopropanol, entre otros. La selección adecuada de ambas fases permitirá la separación de aquellos compuestos presentes en la muestra.

Cuando los compuestos que se separan en una CCF producen manchas coloreadas es fácil observar cuánto se han desplazado, pero cuando son incoloras se debe hacer uso de reveladores, entre otros:

- Luz UV, cuando las substancias que se van a separar o algún compuesto que se ha mezclado con la fase estacionaria absorben luz en el UV. Generalmente se usan longitudes de onda de entre 254 y 366 nm.
- Vapores de yodo, el cual se combina reversiblemente con los compuestos orgánicos que entonces aparecen de color marrón oscuro.
- Reveladores más específicos como la ninhidrina para los aminoácidos, cuyas manchas pasan de incoloras a púrpura.
- Otro recurso es una disolución de agua-ácido sulfúrico 1:1, que se rocía dentro de un compartimiento protegido, bajo la campana de extracción de gases y después se calienta intensamente en mechero o placa hasta carbonizar los compuestos que aparecen entonces como manchas de color negro.

Para identificar los componentes separados de la mezcla por cromatografía en capa fina se utiliza el valor de *Rf* (referencia frontal) que se calcula con la siguiente expresión:

$$Rf = \frac{\textit{Distancia (cm) recorrida por el compuesto desde el punto de aplicación}}{\textit{Distancia (cm) recorrida por el disolvente}}$$

[.../...]

Introducción

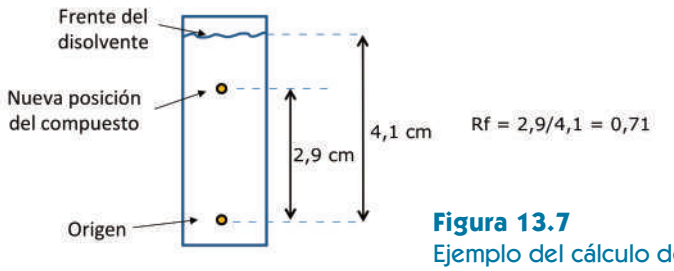


Figura 13.7
Ejemplo del cálculo de *Rf*

Rf es adimensional, siempre inferior a 1 y depende de varios factores, como el tipo de adsorbente o de eluyente, las características de la placa, la temperatura, etc.

Objetivos

- Aprender a realizar una cromatografía en capa fina.
- Separar e identificar los compuestos presentes en un analgésico comercial.

Procedimiento

Patrones. Ácido acetilsalicílico y cafeína (disueltos en hexano).

Muestras. Diversos analgésicos, conteniendo ácido acetilsalicílico y cafeína.

Aplicación de patrones y/o muestra. Los patrones y la muestra se depositarán con un capilar sobre las placas de cromatografía a aproximadamente a 1 cm del borde inferior. Marcar con un lápiz la situación del punto de aplicación.

Experimento 1. *Influencia del tamaño de muestra en el tamaño de las manchas separadas*

1. En una placa, poner cantidades crecientes de uno de los patrones. Para ello, poner en un primer punto una aplicación de la disolución patrón con un capilar, en un segundo dos aplicaciones y en un tercero, tres aplicaciones. Dejar secar entre aplicaciones.
2. Introducir la placa en la cámara de elución, a la que previamente se le adiciona acetato de etilo que será la fase móvil y tapar.
3. Cuando el frente del disolvente esté muy cerca del borde superior de la placa, retirarla de la cámara y marcar el frente del eluyente con un lápiz. Dejar secar al aire libre.
4. Para visualizar las manchas, revelar con lámpara de UV marcando el contorno de las manchas con lápiz.

Experimento 2. *Influencia de la polaridad de la fase móvil*

1. Se aplican en tres placas diferentes los dos patrones. Se eluye la primera placa con hexano, la segunda con acetato de etilo y la tercera con metanol.
2. Seguir el procedimiento del experimento anterior.

[.../...]

Procedimiento	**Experimento 3.** *Identificación de principios activos en un analgésico comercial* 1. Realizar una disolución de un analgésico comercial en un disolvente adecuado. 2. Aplicar en una placa la disolución del analgésico, el patrón de ácido acetilsalicílico y el patrón de cafeína. 3. Seguir el procedimiento del experimento 1, usando acetato de etilo como fase móvil.
Cuestiones	**Experimento 1:** 1. ¿Cuál es la relación entre el tamaño de las manchas y la cantidad aplicada de patrón? 2. Calcular el valor de *Rf* en cada caso. **Experimento 2:** 1. ¿Cuál es la fase móvil adecuada para cada uno de los patrones y por qué? 2. ¿Cuál de los dos patrones es más polar? **Experimento 3:** 1. Calcular el valor de *Rf* de la cafeína y del ácido acetilsalicílico. 2. ¿Se confirma la presencia de cafeína o de ácido acetilsalicílico en el analgésico estudiado? 3. ¿Existen en el analgésico más sustancias además de las estudiadas?
Notas	1. Se debe evitar rayar la capa adsorbente con el capilar porque puede haber pérdida de resolución o desplazamiento deficiente del disolvente. 2. Alternativamente al revelado con lámpara UV, introducir la placa en una cámara con cristales de yodo durante 2 minutos aproximadamente en campana de extracción.

Ejercicios propuestos



1. Visita las siguientes páginas web, sobre diversos tipos de cromatografías:

   - *Animación sobre cromatografía de exclusión molecular:* http://www.wiley.com/college/fob/quiz/quiz05/5-6.html
   - *Animación sobre cromatografía de intercambio iónico:* http://www.wiley.com/college/fob/quiz/quiz05/5-5.html
   - *Vídeo sobre cromatografía en papel circular:* http://www.ichromatography.com/cyclograph-deluxe-centrifugal-chromotography-device.html

2. En un análisis cromatográfico de ácidos orgánicos, el ácido X eluye con un tiempo de retención de 6,55 min. El tiempo muerto de la columna es de 0,42 min. Calcula el factor de capacidad del ácido X.
3. En el mismo análisis que el planteado en el ejercicio propuesto anterior, el tiempo de retención del ácido Z es de 4,70 min, ¿cuál es el factor de selectividad para los ácidos X y Z?
4. Calcula la resolución para el metilciclohexano y el metilciclohexeno, si tras eluirlos en un cromatógrafo de gases se obtienen los siguientes datos:
   - Tiempo muerto: 1,8 min
   - Metilciclohexano: Tiempo de retención: 9,7 min
Ancho de pico: 0,74 min
   - Metilciclohexeno: Tiempo de retención: 10,5 min
Ancho de pico: 0,80 min
5. Se analiza el contenido de nitrosodimetilamina (NDMA) en una muestra de cerveza por cromatografía. Para ello se toman 50 mL de la misma y se agrega como patrón interno 0,19 µg de nitrosodipropioamina (NDPA). El factor de respuesta encontrado para ambos compuestos es 2,0. Las áreas de los picos en el cromatograma obtenido de la muestra son 16210 y 14600 para el NDMA y el NDPA, respectivamente. Calcula la concentración de NDMA en la muestra, en mg/L.
6. Se lleva a cabo la separación de tres esteroides por cromatografía de gases. Tras el análisis se encuentran los siguientes resultados:

Compuesto	Área relativa de pico	Factor de respuesta del detector
Estradiol	27,4	0,72
Testosterona	58,6	0,74
Estriol	32,3	0,78

Empleando el método de normalización de área, calcula el porcentaje de cada uno de los esteroides en la mezcla.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. La cromatografía líquida utiliza una fase estacionaria…:
   - ☐ *a)* Líquida.
   - ☐ *b)* Sólida.
   - ☐ *c)* Líquida o sólida.

2. El tiempo de retención de un compuesto con respecto al tiempo muerto es:
   - ☐ *a)* Siempre igual o mayor.
   - ☐ *b)* Siempre igual o menor.
   - ☐ *c)* Ninguna de las opciones anteriores es correcta.

3. En una separación cromatográfica de dos compuestos:
   - ☐ *a)* A mayor anchura de picos, peor resolución.
   - ☐ *b)* A menor anchura de picos, peor resolución.
   - ☐ *c)* La anchura de los picos no tiene influencia en la resolución.

4. El factor de selectividad entre dos compuestos…:
   - ☐ *a)* Varía entre 0 y 1.
   - ☐ *b)* Puede ser igual o mayor a 1.
   - ☐ *c)* Puede adquirir valores negativos cuando la selectividad es muy mala.

5. El patrón interno en cromatografía:
   - ☐ *a)* Es el compuesto que indica el tiempo muerto del sistema cromatográfico.
   - ☐ *b)* Es un compuesto presente en la muestra y que produce una interferencia interna.
   - ☐ *c)* Es un compuesto no presente en la muestra que se añade a la misma y a una serie de patrones para realizar la determinación cuantitativa de un analito.

SOLUCIONES:

1. a b **c** **3.** **a** b c **5.** a b **c**
2. **a** b c **4.** a **b** c

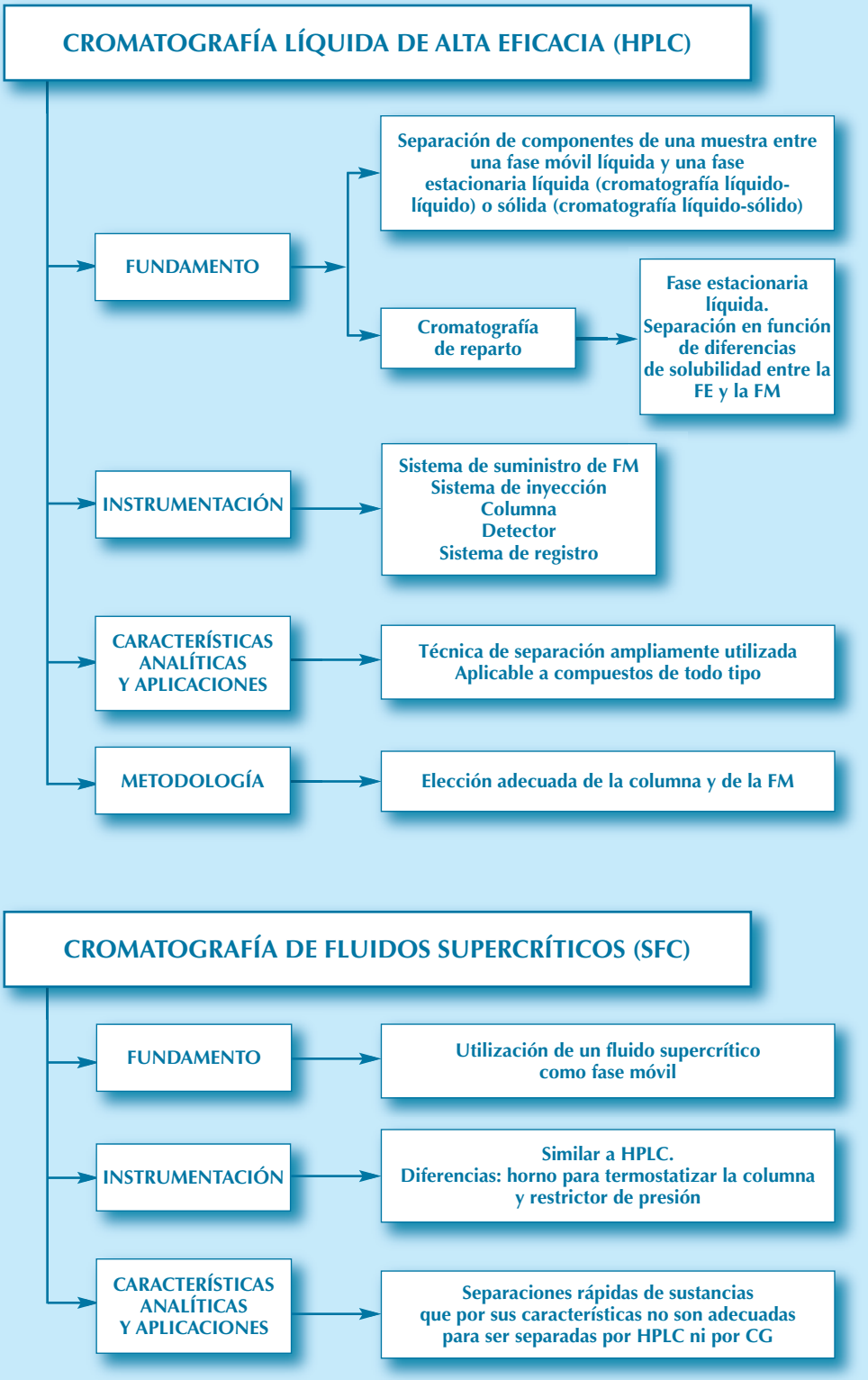
14

Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) y cromatografía de fluidos supercríticos (SFC)

Objetivos

1. Conocer las partes constituyentes de un cromatógrafo de líquidos.
2. Manejar un equipo de cromatografía líquida de alta eficacia.
3. Realizar el mantenimiento de las diferentes partes de un equipo de cromatografía de líquidos.
4. Obtener resultados cromatográficos e interpretarlos convenientemente.

Mapa conceptual del capítulo


CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA EFICACIA (HPLC)
FUNDAMENTO
Separación de componentes de una muestra entre una fase móvil líquida y una fase estacionaria líquida (cromatografía líquido-líquido) o sólida (cromatografía líquido-sólido)
Cromatografía de reparto
Fase estacionaria líquida. Separación en función de diferencias de solubilidad entre la FE y la FM
INSTRUMENTACIÓN
Sistema de suministro de FM
Sistema de inyección
Columna
Detector
Sistema de registro
CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS Y APLICACIONES
Técnica de separación ampliamente utilizada
Aplicable a compuestos de todo tipo
METODOLOGÍA
Elección adecuada de la columna y de la FM
CROMATOGRAFÍA DE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS (SFC)
FUNDAMENTO
Utilización de un fluido supercrítico como fase móvil
INSTRUMENTACIÓN
Similar a HPLC.
Diferencias: horno para termostatizar la columna y restrictor de presión
CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS Y APLICACIONES
Separaciones rápidas de sustancias que por sus características no son adecuadas para ser separadas por HPLC ni por CG

Glosario

Coeficiente de difusión. Parámetro que mide la facilidad con que cada soluto en particular se mueve en un disolvente determinado.

Cromatografía de gases. Técnica cromatográfica en la que la fase móvil es un gas.

Efecto memoria. Aparece cuando la inyección de un blanco produce una versión miniaturizada del cromatograma inyectado previamente.

Efluente. La fase móvil que sale la columna.

Lecho cromatográfico. Se puede usar como término general para designar cualquiera de las formas diferentes en que se use la fase estacionaria.

Sala limpia. Local con atmósfera controlada cuyo objetivo es reducir al máximo el nivel de contaminación. Su clasificación se hace en función del nivel medio de concentración de partículas de un determinado tamaño en el aire.

Picos fantasma. Picos inesperados en el cromatograma, generalmente causados por la contaminación en el sistema o en la muestra.

14.1. Introducción a HPLC

En una primera etapa la cromatografía de líquidos consistía en hacer pasar mediante gravedad una fase líquida sobre una fase estacionaria sólida retenida en una columna, generalmente de vidrio y con diámetros de 1 a 5 cm y longitudes de 50 a 500 cm. El eluido se iba recogiendo en fracciones.

Para asegurar unos caudales razonables, el diámetro de las partículas de la fase estacionaria por lo general era de 150 a 200 μm. Incluso así, los caudales eran bajos, llegando a unas pocas décimas de mililitro por minuto. En consecuencia, los tiempos de separación eran largos, frecuentemente de varias horas. Los intentos para acelerar el procedimiento clásico, mediante la aplicación de vacío o por bombeo, no resultaban adecuados porque daban lugar a una menor eficacia.

Además de lenta, la cromatografía clásica es tediosa, poco eficaz tanto en capacidad de discriminación entre componentes como en el número de ellos que pueden separarse, y no proporciona directamente el cromatograma, teniendo que aplicar una detección discontinua a cada fracción del eluido.

Por todas estas razones las aplicaciones de la cromatografía líquida clásica fueron restringidas en contraste con el espectacular desarrollo de la cromatografía de gases. La diferencia fundamental entre ambas técnicas nace de la diferencia en la viscosidad de la fase móvil y su capacidad para atravesar lechos empaquetados.

A finales de los años sesenta se desarrolló la tecnología adecuada para producir y utilizar rellenos de tamaño de partícula del orden de los 3 a 10 μm. Con este relleno se necesita impulsar a la fase móvil con mucha presión, requiriendo una instrumentación bastante más sofisticada y cara que la que se estaba usando clásicamente. A cambio, se consigue obtener una resolución mucho más alta, es decir, se aumenta la capacidad de separación de los componentes de la muestra.

Para distinguir estos procedimientos más nuevos de los métodos clásicos, que todavía se utilizan con fines preparativos, se emplea la denominación de cromatografía de líquidos de alta eficacia (o alta presión). Se conoce ampliamente como HPLC, por sus siglas en inglés ("High Performance Liquid Chromatography").

En HPLC la separación se efectúa debido a las interacciones de la muestra y la fase estacionaria, tales como reparto líquido-líquido, adsorción líquido-sólido, intercambio de iones y exclusión por tamaño, y a las interacciones entre la muestra y la fase móvil. Sean cuales sean las interacciones que tengan lugar, el equipo básico y sus componentes son esencialmente los mismos. Lo que varía es la naturaleza de la fase estacionaria y la fase móvil, dando lugar a los diversos tipos de cromatografía líquida.

A) Cromatografía de reparto

La cromatografía de reparto (o cromatografía de partición) es probablemente el tipo de cromatografía líquida de alta resolución más utilizado. Es una cromatografía que emplea como fase estacionaria un líquido retenido sobre un soporte sólido, o bien enlazado químicamente al mismo (fase estacionaria ligada). La separación de los componentes de la muestra se basa en la diferente solubilidad entre la fase móvil y la fase estacionaria.

Según la naturaleza de las fases, se distinguen a su vez dos tipos generales de cromatografía de partición: cromatografía en fase normal, en la que la fase móvil es de naturaleza no polar y la fase estacionaria es fundamentalmente polar, y cromatografía en fase inversa (o reversa), al contrario que la anterior, y que es la forma más habitual.

El orden de elución de los componentes de la muestra en HPLC depende de la polaridad. En una cromatografía en fase normal, el componente menos polar pasa menos tiempo en la fase estacionaria (polar) y es el primero que eluye de la columna. En la cromatografía en fase reversa, el orden de elución es el inverso: el componente que sale primero es el más polar.

Fases móviles que se utilizan frecuentemente en la cromatografía de partición son agua, acetonitrilo, metanol, etanol, dioxano, tetracloruro de carbono y ciclohexano, puros o combinados en proporciones adecuadas.

B) Cromatografía de adsorción

En la cromatografía de adsorción el relleno sólido de la columna actúa como fase estacionaria. Suele emplearse sílice o alúmina. La fase estacionaria normalmente es polar, por lo que suelen utilizarse fases móviles no polares o de polaridad baja. Fases móviles típicas son hexano, isooctano y cloruro de metileno.

Este tipo de cromatografía no ofrece ventajas especiales sobre la cromatografía de partición, salvo en el caso de análisis de isómeros.

C) Cromatografía de intercambio iónico

En la cromatografía de intercambio iónico la fase estacionaria es una resina polimerizada mediante enlaces cruzados, unida de forma covalente a grupos funcionales iónicos. Los con-

traiones de estas cargas fijas son móviles, y pueden ser desplazados por iones que compiten por los lugares de intercambio.

Las resinas se dividen en cuatro categorías, según el grupo funcional del que dispongan: intercambiadores catiónicos de ácidos fuertes, intercambiadores catiónicos de ácidos débiles, intercambiadores aniónicos de bases fuertes e intercambiadores aniónicos de bases débiles.

Estas resinas se introducen en las columnas bien como perlas de polímero poroso o bien recubriendo partículas de sílice con el polímero.

La fase móvil suele ser un tampón acuoso, cuyo pH y composición iónica determinan el tiempo de retención de los componentes.

D) Cromatografía de exclusión por tamaño

En la cromatografía de exclusión por tamaño la base de la separación es la capacidad del soluto para penetrar en los poros del empaquetamiento de la columna. La fase estacionaria actúa solo de soporte inerte, y las características de la fase móvil no constituyen un factor decisivo en la discriminación de componentes.

La fase estacionaria puede ser de naturaleza silícea, pero también se emplean geles de poliacrilamidas, dextranos (comercialmente denominado Sephadex), agarosa y poliestireno.

14.2. Instrumentación en HPLC

Un cromatógrafo de líquidos consta de una serie de elementos indispensables, que normalmente se constituyen en módulos con funciones bien definidas. La circulación de la fase móvil entre los módulos se hace a través de conductos tubulares. Deben emplearse siempre diámetros muy pequeños para estos conductos, con el fin de minimizar el ensanchamiento de banda.

En la figura 14.1 se muestra un esquema de los componentes fundamentales de un cromatógrafo de líquido de alta eficacia.

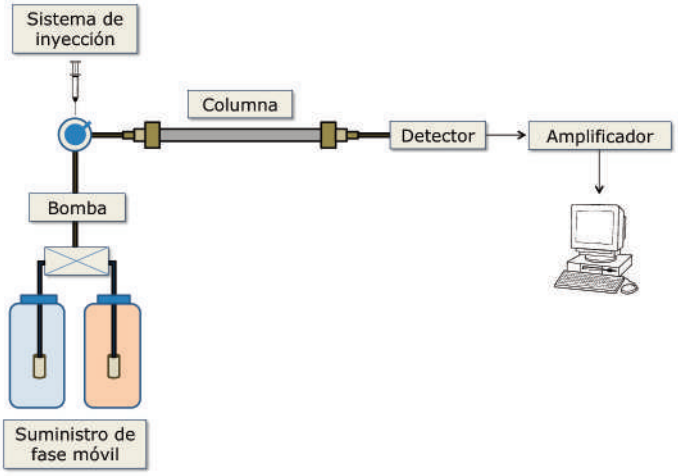


Figura 14.1
Componentes de un equipo de HPLC

14.2.1. Sistema de suministro de fase móvil

La cromatografía de líquidos utiliza una fase móvil líquida. Esta fase puede ser un disolvente puro, o una mezcla de disolventes. Además, la fase móvil puede mantener durante todo el proceso la misma composición, realizándose entonces una elución isocrática, o, lo que es más frecuente, pueden usarse dos o más disolventes cuya relación va variando a lo largo del proceso, de forma programada. Esta elución se denomina en gradiente, y aumenta considerablemente la eficacia de la separación.

A) Sistemas para el tratamiento de los disolventes

En cualquier caso, los disolventes que se usen deben ser tratados previamente, para eliminar los gases disueltos y las pequeñas partículas materiales como el polvo. Los gases interfieren formando burbujas en la columna y en el detector pudiendo distorsionar las señales, y las partículas pueden ocluir las tuberías o la columna.

La desgasificación puede hacerse de varias formas:

- *Borboteo con helio.* La principal finalidad del borboteo por helio es desplazar el nitrógeno y el oxígeno que pudiera haber en la fase móvil. El helio tiene una bajísima solubilidad en la mayoría de las fases, por lo que se consigue un líquido relativamente libre de gases.
- *Desgasificación por vacío.* Se puede usar una bomba de vacío para este fin, pero en la actualidad es más empleada la desgasificación en línea: la fase móvil se hace pasar por un tubo

PARA SABER MÁS

Presencia de burbujas

Una burbuja que entra en la columna forzará su recorrido a través del lecho de relleno de la fase estacionaria, provocando la formación de "canales".

Dicha canalización disminuye rápidamente el rendimiento de la columna ya que los analitos son capaces de atravesar la columna por dichos canales, lo que se traduce en un menor tiempo de retención sobre la fase estacionaria, saturándose rápidamente dichos huecos por moléculas de analito. Tal efecto conduce generalmente a la distorsión de los picos cromatográficos.

El paso de burbujas de gas al detector afectará a la línea base cromatográfica; se generará ruido de forma aleatoria que se traduce en la presencia de picos fantasma. El efecto neto será una disminución en la relación señal-ruido, con su correspondiente aumento en el límite de detección.

Además, una pobre desgasificación de la fase móvil se traducirá en un mal cebado de la bomba y una pobre reproducibilidad de gradientes, lo que llevará a variaciones en los tiempos de retención del analito.

permeable a los gases, en el que se genera un gradiente de vacío, consiguiéndose así la expulsión de los gases, que atraviesan la membrana del tubo.

– *Ultrasonidos*. La fase móvil se desgasifica por sonicación de forma que los gases disueltos se aglomeran formando burbujas con el suficiente tamaño para flotar hasta la superficie del líquido. La eficacia de esta técnica es limitada, además se lleva a cabo fuera del sistema y el calor generado en el proceso puede provocar la pérdida de los compuestos más volátiles de la fase móvil. Estas limitaciones se compensan generalmente por su simplicidad y bajo coste.

Las partículas se eliminan por filtración. Estas operaciones pueden hacerse en el mismo aparato, si está diseñado para ello, o antes de colocar los disolventes en sus depósitos.

La filtración se debe hacer con los filtros adecuados según el disolvente que se vaya a tratar; para disolventes acuosos los filtros serán hidrófilos (por ejemplo, de acetato y nitrato de celulosa), y para disolventes orgánicos, hidrófobos (por ejemplo, de teflón). Hay que tener en cuenta que los filtros pueden estar revestidos o contener materiales como tensioactivos o glicerina, que podrían arrastrarse como contaminación a la fase móvil. Por tanto, es una buena práctica hacer un prelavado de los filtros desechando las primeras porciones de disolvente que pasan por el mismo.

Para filtrar los disolventes en línea, se usan filtros de vidrio sinterizado o de acero inoxidable, que deben ser limpiados o reemplazados periódicamente (figura 14.2).

A veces se desaconseja filtrar los disolventes de calidad HPLC. Estos disolventes se suministran ya eficazmente filtrados a 0,22 μm y posteriormente embotellados bajo condiciones de "sala limpia". En consecuencia, el riesgo de introducción de materia particulada o contaminantes aumenta considerablemente cuando se realiza de nuevo la filtración en el laboratorio. No obstante, estos disolventes pueden acumular partículas en suspensión que provienen de varias fuentes: la exposición al polvo en el aire durante el trasegado del disolvente a su depósito o durante su almacenamiento, la degradación lenta del recipiente que lo contiene, o incluso provienen de la condensación y polimerización del disolvente. La decisión de filtración corresponde en última instancia al analista.

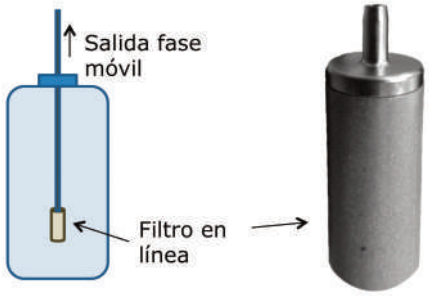


Figura 14.2
Filtro en línea

B) Depósitos de fase móvil

Los depósitos para contener los disolventes suelen ser recipientes de vidrio o de acero inoxidable, con una capacidad de entre 200 y 1000 mL, aunque no todos los aparatos de HPLC están equipados con ellos.

C) Sistemas de bombeo

Debido al pequeño tamaño de las partículas de la fase estacionaria, en HPLC se debe trabajar con elevadas presiones de trabajo, y se hace necesario utilizar bombas que proporcionen un flujo aceptable de eluyente. Los sistemas de bombeo deben reunir las siguientes características:

- Ofrecer un amplio rango de presiones, suficientemente altas. Una vez seleccionada la presión, debe mantenerse contante en el tiempo.
- Flujo libre de pulsaciones.
- Intervalo de caudales de 0,1 a 10 mL/min.
- Control y reproducibilidad del caudal.
- Componentes resistentes a la corrosión.

Se utilizan tres tipos de bombas: (a) bombas recíprocas, (b) bombas de jeringa y (c) bombas neumáticas.

a) Bombas recíprocas. Son las más usadas; consisten en un pistón situado en el interior de una cámara de volumen reducido, que alternativamente succiona el eluyente contenido en un depósito a baja presión y lo impulsa hacia la columna a presión alta, mediante un sistema de válvulas.

b) Bombas de desplazamiento. Se utilizan mucho menos que las anteriores y básicamente consisten en una cámara relativamente grande equipada con un émbolo, que se activa por un mecanismo de tornillo. Suministran un flujo libre de pulsaciones, pero presentan el inconveniente de una capacidad de disolvente limitada.

c) Bombas neumáticas. Hacen uso de la presión de un gas aplicado al recipiente que contiene la fase móvil. Estas bombas son muy sencillas y no provocan pulsaciones, si bien, están limitadas a presiones relativamente bajas.

PARA SABER MÁS

Control del caudal

Como una parte del sistema de bombeo, muchos instrumentos comerciales se equipan con dispositivos controlados por ordenador que permiten medir y mantener el caudal. Cualquier diferencia entre la señal y un valor preestablecido se usa para aumentar o disminuir la velocidad del motor de la bomba.

D) Sistema de mezclado

Para trabajar con varios disolventes, es necesario que el equipo cromatográfico tenga un dispositivo capaz de realizar mezclas con un control preciso y reproducible.

Los dos sistemas principales de mezclado de los componentes de la fase móvil son:(a) mezclado a alta presión y (b) mezclado a baja presión (figura 14.3):

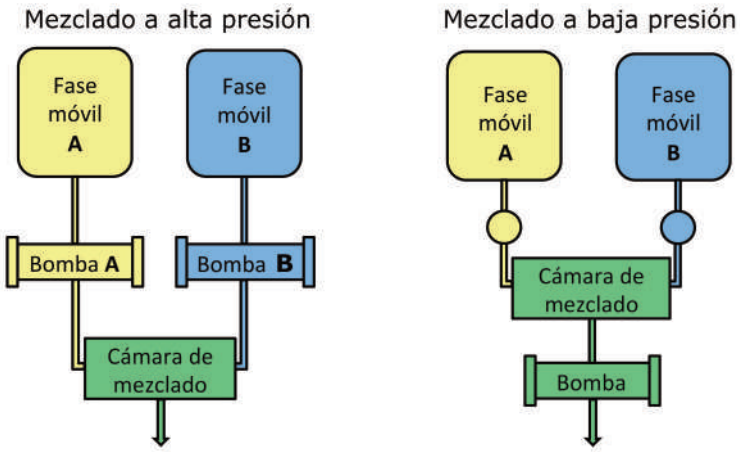


Figura 14.3
Esquema de los sistemas de mezclado de disolventes para la fase móvil

a) Mezclado a alta presión. Se utiliza una bomba para cada uno de los disolventes, estando la salida de cada bomba conectada a una conexión en T o a una pequeña cámara de mezcla. La denominación de alta presión se debe a que la mezcla se realiza una vez que los disolventes han pasado por la bomba y, por tanto, han adquirido la presión de trabajo.

b) Mezclado a baja presión. El mezclado de los constituyentes de la fase móvil se lleva a cabo antes de que éstos entren en la bomba, controlándose así todo el caudal del sistema cromatográfico con una sola bomba. Esto reduce considerablemente el coste del equipo con respecto al mezclado a alta presión, pero tiene el inconveniente de que la reproducibilidad no es tan buena, sobre todo si uno de los constituyentes se encuentra en una proporción por debajo del 5%.

14.2.2. Sistemas de inyección de la muestra

Se trata de montajes más o menos sofisticados diseñados para introducir un volumen pequeño de muestra líquida en el sistema, lógicamente entre el sistema de bombeo y la columna.

La introducción de la muestra en la columna suele ser el factor limitante en la precisión de las medidas en cromatografía. Un inyector ideal debe tener las siguientes características:

- Introducir volúmenes pequeños y reproducibles de muestra, del orden de microlitros.
- Originar la menor dispersión física posible del volumen mezclado para evitar que los picos cromatográficos se ensanchen.

– Dar resultados reproducibles, tanto en el volumen de muestra introducido como en el ensanchamiento de banda que produce.
– No alterar las características hidrodinámicas del sistema: no debe interrumpir el flujo ni variar momentáneamente la presión o el caudal.
– Ser de fácil manejo.

Fundamentalmente existen dos sistemas de inyectores manuales: (a) inyector de jeringa y (b) inyector de válvula.

a) Inyector de jeringa. La introducción de la muestra en la columna se hace mediante una jeringa cuya aguja entra en el sistema cromatográfico a través de un disco de material elastomérico o "septum" que cierra herméticamente.

Estos inyectores son sencillos y de fácil construcción, pero la reproducibilidad que aportan no es buena y su uso en HPLC es muy escaso.

b) Inyector de válvula. Se basan en el funcionamiento de una válvula de 6 vías: dos de entrada, dos de salida y dos conectadas entre sí mediante un bucle de un volumen dado. La válvula tiene dos posiciones (figura 14.4):

- En la posición de llenado, la bomba y la columna están conectadas pasando la fase móvil directamente a la columna. La muestra es introducida mediante una jeringa o por aspiración a un pequeño depósito de forma tubular, denominado bucle o "loop". El bucle es intercambiable permitiendo la elección del tamaño de la muestra (5-500 μL normalmente).
- Una vez cargada la muestra, se gira el inyector hasta la posición de inyección; con el giro las interconexiones cambian: ahora la fase móvil pasa a través del bucle que contiene la muestra y la arrastra hacia la columna. El giro debe hacerse lo más rápido posible para minimizar en lo posible un pulso de presión, ya que en la posición intermedia entre el llenado y la inyección, el flujo de fase móvil cae a cero.

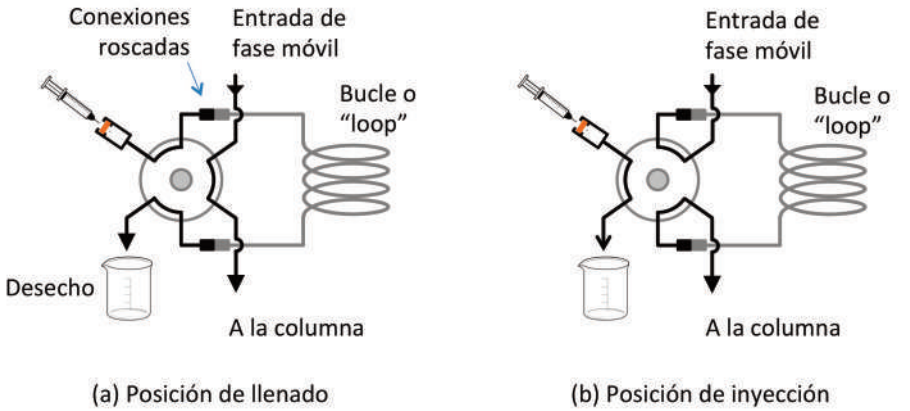


Figura 14.4
Diagrama esquemático de un inyector de válvula

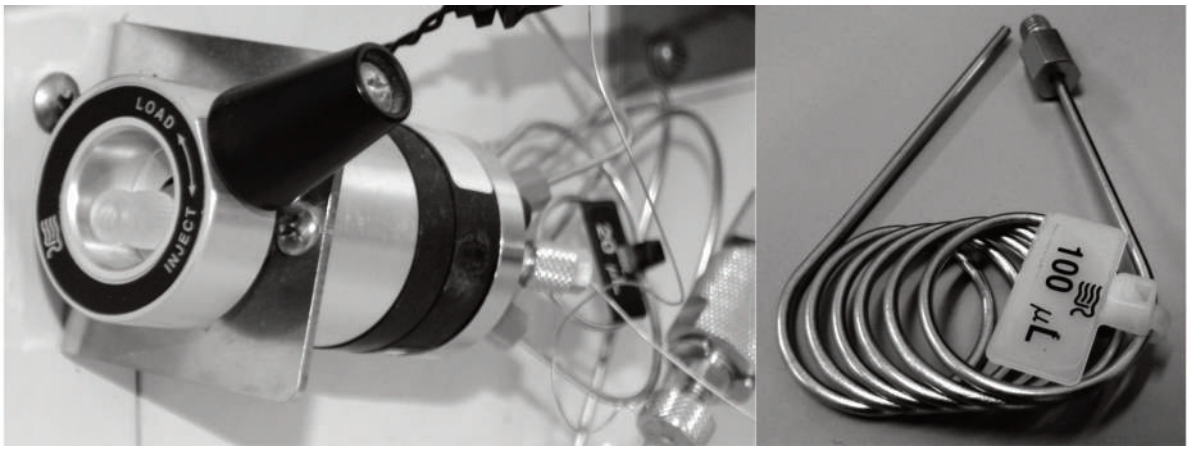


Figura 14.5
Detalle de válvula y bucle de inyección

PARA SABER MÁS

Volumen de muestra

Hay que tener en cuenta que el bucle de la válvula de inyección contiene fase móvil, por lo que debe inyectarse un volumen de muestra de entre 2 y 5 veces el volumen del bucle, para eliminar así cualquier efecto de dilución.

Aunque el bucle controla efectivamente el volumen de muestra inyectada, haciendo que la cantidad de muestra introducida por la jeringa no sea un parámetro crítico, para obtener máxima precisión y linealidad es una práctica recomendada cargar siempre el bucle con el mismo volumen de muestra, por ejemplo, tres veces el volumen del mismo, ±10%.

Después de la inyección son necesarios 5-10 volúmenes del bucle para desplazar completamente la muestra del mismo. Se recomienda, por tanto, mantener el inyector en la posición de inyección el tiempo necesario para permitir que la fase móvil fluya a través del bucle arrastrando completamente la muestra.

Los inyectores de válvula ofrecen una medida más cómoda y segura del volumen a través del bucle, no alteran el flujo de la fase móvil y permiten operar a temperaturas superiores a la del ambiente. La precisión alcanzada es notoriamente mayor a la ofrecida por los inyectores de jeringa, y por todo ello es el sistema más ampliamente utilizado.

Los equipos actuales de HPLC suelen contar con inyectores automáticos (también denominados automuestradores); así se puede aumentar el número de muestras analizadas, además de mejorar la precisión. Aunque pueden ser muy variados según el fabricante, todos incluyen unos componentes esenciales:

– Las muestras se disponen en viales. Cada vial está sellado con un "septum", para evitar la evaporación del disolvente, que produciría cambios en la concentración.

– Los viales se sitúan en gradillas que permiten un orden de inyección, que puede ser aleatorio, o siguiendo una serie preestablecida. Las gradillas pueden ser incluso termostatizadas.
– Con una aguja de inyección, se atraviesa el "septum" y se toma el volumen de muestra establecido.
– Se introduce la muestra en una válvula de inyección, cuya conmutación entre una posición y otra es realizada de forma neumática o eléctrica.

Sea cual sea el sistema elegido, antes de introducir la muestra se debe filtrar.

14.2.3. Columna

Es la parte esencial del cromatógrafo de líquidos, ya que en ella, a través de diferentes mecanismos, tiene lugar la separación de los analitos. Es condición indispensable para la reproducibilidad de los resultados una gran homogeneidad en la distribución de la fase estacionaria, lo que implica la necesidad de técnicas precisas y complejas de preparación de las columnas. Las casas comerciales ofrecen una gran variedad y resulta fundamental una correcta elección para cada separación.

Las columnas son tubos de acero que miden entre 10 y 30 cm de longitud y cuyo diámetro oscila entre 2 y 10 mm normalmente (figura 14.6). Por lo general son rectas, aunque en algunas ocasiones se pueden encontrar columnas configuradas con forma helicoidal. Como cierres del tubo se colocan fritados, que son mallas de un tamaño de poro inferior al diámetro de las partículas del relleno de la columna, para evitar que éstas se salgan. El fritado de entrada también sirve para proteger a la columna de impurezas.



Figura 14.6
Columna cromatográfica para HPLC

A) Diámetro

La elección del diámetro interno de la columna se realiza en función de la cantidad de muestra que se va a separar. Para las separaciones a escala analítica se suelen usar columnas de pequeños diámetros (hasta 6 mm) mientras que para los trabajos a escala preparativa se suelen superar los 10 mm. El inconveniente de las columnas de gran diámetro es el consumo elevado de disolventes.

B) Longitud

En cuanto a la longitud de la columna se tienen que tener en cuenta dos factores contrapuestos: a mayor longitud la eficacia de separación aumenta, pero la presión en la cabeza de la

columna se eleva considerablemente, por lo que hay que llegar a un compromiso entre eficacia y caída de presión.

C) Relleno

En HPLC se emplean dos tipos de rellenos para las columnas:

- Relleno pelicular: se utilizan bolitas no porosas de vidrio o polímero; sobre su superficie se deposita la fase estacionaria, constituida por capas delgadas y porosas de sílice, alúmina o resinas de intercambio iónico, o bien por una fina película de líquido.
- Partículas porosas: se trata de micropartículas de tamaños comprendidos entre 3 y 10 μm de diámetro, que actúan directamente como fase estacionaria, o bien como soporte de una película líquida, enlazada física o químicamente, que actúa como fase estacionaria. Este tamaño de partícula consigue grandes incrementos en la eficacia de la columna, y su uso está muy generalizado.

En cuanto al material que constituye el relleno, en la gran mayoría de las columnas se utiliza sílice (SiO_2), aunque también es posible encontrar rellenos basados en polímeros sintéticos. La sílice también se usa ampliamente como fase estacionaria, como tal, o modificada químicamente.

Las propiedades de la sílice que propician su utilización son las siguientes:

- Gran resistencia mecánica, soportando altas presiones de trabajo.
- Amplia gama de formas, tamaños y diámetros de poro, lo que permite conseguir una gran variedad de estructuras. Es posible encontrar sílices esféricas, irregulares o poligonales, lo que tiene gran influencia en el empaquetado de la columna, y en la posterior eficacia de la misma.
- Gran variedad en cuanto a la superficie específica que puede presentar. Este hecho conlleva que existan sílices de gran reactividad o de relativa inercia, y por tanto que se tenga una amplia gama de capacidades de separación.

PARA SABER MÁS

Intervalo de pH de trabajo con sílice

La sílice funciona de manera estable en un rango de pH de entre 2 y 7,5. A un pH menor de 2 algunos enlaces se hidrolizan, creando grupos de cargas negativas en la sílice. Esto generaría una fuerte atracción de los compuestos con cargas positivas de la muestra, dando lugar a una cola en el pico de dicho compuesto, o incluso a una permanente unión de los compuestos en la sílice. Por otro lado, con un pH superior a 7,5 la sílice se disuelve, creando un vacío en la fase estacionaria, lo cual, lógicamente, va a afectar a su rendimiento.

De entre las diversas columnas para HPLC, las más usadas son las C18. Se emplean en la cromatografía líquido-líquido en fase inversa. Estas columnas contienen gel de sílice modificado con varios grupos funcionales hidrofóbicos, en concreto, con una cadena recta de 18 carbonos. Cuando la cadena posee 8 carbonos la columna se denomina C8, y también son columnas de uso muy frecuente. Hay una amplia gama de columnas C18 y C8 en el mercado.

Los rellenos a base de polímeros sintéticos incluyen normalmente polietileno y polipropileno. Además, aunque con un uso muy limitado, se encuentran rellenos con sustancias naturales, tales como celulosa o agarosa, y con materiales cerámicos tales como hidroxiapatita y zirconia.

PARA SABER MÁS

Microcolumnas

Uno de los últimos avances en HPLC son las microcolumnas o columnas capilares, en las que se ha reducido el diámetro a costa de aumentar su longitud; las microcolumnas tienen normalmente un diámetro menor a 1 mm y una longitud bastante superior a las usuales. Hay de tres tipos: tubular abierto, parcialmente empaquetadas, y fuertemente empaquetadas.

Estas columnas incrementan la eficacia separativa, además de otras ventajas como permitir trabajar con volúmenes de muestra del orden de nanolitros, y la reducción drástica del volumen de fase móvil empleado (dado que el caudal se reduce considerablemente, entre 1-50 µL/min), lo que abarata el proceso. Sin embargo, el resto de instrumentación debe ser miniaturizado, y dado que se cargan volúmenes de muestra extremadamente pequeños, la reproducibilidad puede no ser buena.

D) Precolumna

Para aumentar la vida útil de la columna analítica se pueden utilizar precolumnas. Su uso ayuda a minimizar costes ya que reduce la frecuencia de sustitución de la columna analítica.

Una precolumna elimina la materia en suspensión y los contaminantes de los disolventes previniendo daños. La composición del relleno de la precolumna debe ser semejante a la de la columna analítica; sin embargo, el tamaño de la partícula es por lo común mayor para minimizar la caída de presión.

E) Termostatización

La temperatura no es una variable clave para la resolución cromatográfica en HPLC. No obstante, la temperatura afecta a la solubilidad y a la difusión de los componentes de la muestra en la fase móvil, así como a la viscosidad de la fase móvil. Por ello, al objeto de obtener resultados reproducibles, conviene tener un control de la temperatura, especialmente en la columna.

Para mantener constante la temperatura de la columna, muchos aparatos actualmente van equipados con hornos. Otra opción es colocar a la columna en camisas con agua que provenga de un baño a temperatura constante. La temperatura normal de trabajo es de 25 °C, aunque para algunos tipos de separaciones son necesarias temperaturas mayores, pero siempre por debajo suficientemente del punto de ebullición de la fase móvil.

14.2.4. Detector

Los detectores se sitúan a la salida de la columna, y proporcionan de forma continua información acerca de la composición del eluyente que circula a su través. Comparan o detectan la diferencia en alguna propiedad física entre la fase móvil y la fase móvil más muestra.

Un detector ideal en HPLC debe ser sensible a pequeñas concentraciones de analito, dar una respuesta lineal amplia, tener poco ruido de fondo y ser estable en el tiempo que dura el cromatograma. Además, en caso de que se utilice un gradiente para la elución debe ser insensible a los cambios de composición de la fase móvil.

Los detectores en cromatografía de líquidos son de dos tipos básicos:

1. Detectores que se basan en la medida de una propiedad de la fase móvil, tal como el índice de refracción, la constante dieléctrica, o la densidad, que se modifica en presencia del analito.
2. Detectores basados en alguna propiedad de los componentes de la muestra, como la absorbancia en el ultravioleta, fluorescencia, o corriente límite.

A) Detector de índice de refracción

El índice de refracción es una característica física definida de todos los compuestos. La detección se basa en equilibrar el detector con fase móvil pura a caudal constante, y medir el cambio de índice de refracción cuando aparece la muestra eluida junto con la fase móvil. Resulta obvio que cuanto mayor sea la diferencia entre los índices de refracción de la muestra y de la fase móvil se obtendrá mayor sensibilidad.

Un inconveniente importante de este detector es la necesidad de reequilibrarlo cada vez que se produce un pequeño cambio en la composición de la fase móvil, por lo que no puede ser usado en las separaciones con elución por gradiente.

B) Detector de ultravioleta/visible

El detector de ultravioleta es muy común en HPLC, porque muchas sustancias absorben luz ultravioleta. Los sistemas más simples utilizan la intensa línea de emisión a 254 nm de una lámpara de mercurio. Los instrumentos más versátiles tienen también lámparas de deuterio, xenón o wolframio, y un monocromador, con el que se puede elegir la longitud de onda óptima, de ultravioleta o visible, para estudiar los analitos separados.

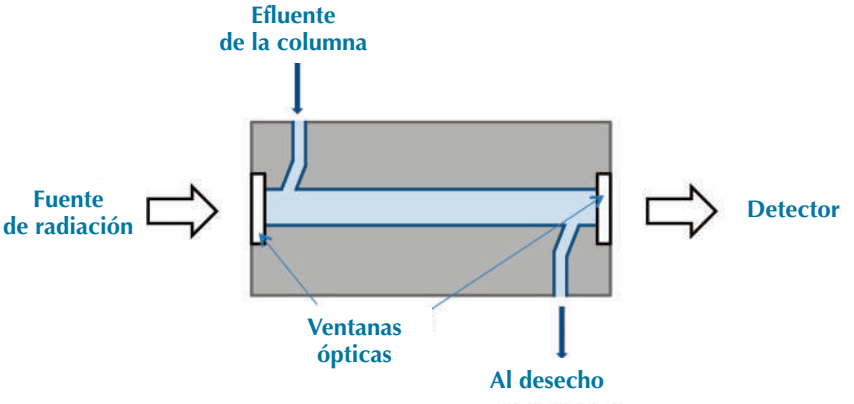


Figura 14.7
Esquema de la celda de medida de un detector de UV/vis para un equipo HPLC

PARA SABER MÁS

Detector de matriz de diodos

El detector de matriz de diodos es un tipo de detector ultravioleta cuya importancia es cada vez mayor en HPLC. Se basa en que el haz de radiación que atraviesa la cubeta a través de la cual circula la fase móvil procedente de la columna es dispersado por medio de una red de difracción fija, siendo recogidas simultáneamente todas las longitudes de onda dispersas mediante una matriz de fotodiodos. El resultado es la obtención del espectro de absorción de cada uno de los componentes de la muestra.

C) Detector de fluorescencia

Son muy sensibles y selectivos, pero solo aplicables a compuestos fluorescentes. El principio de operación se basa en la irradiación con la luz UV al componente de interés y la posterior medida de la luz fluorescente emitida por éste.

D) Detector electroquímico

Este tipo de detectores responden a analitos que puedan oxidarse o reducirse. Se basan en métodos electroanalíticos como la amperometría o la coulombimetría.

E) Detector de conductividad eléctrica

El detector de conductividad es el más utilizado cuando los analitos eluidos son iónicos, por ejemplo en cromatografía iónica. Son detectores de elevada sensibilidad, baratos y de larga duración.

PARA SABER MÁS

Columnas supresoras de iones

La elevada concentración de electrolitos de la fase móvil utilizada en cromatografía iónica puede constituir un problema en un detector de conductividad: existe mucha conductividad de fondo, y puede impedir la detección del analito cuando eluye de la columna.

Para eliminar el problema y reducir al mínimo la contribución de la fase móvil a la conductividad, entre la columna analítica y el detector se dispone una columna supresora de iones, que elimina de forma selectiva los electrolitos de la fase móvil, sin eliminar los iones de la muestra.

14.3. Características analíticas y aplicaciones de HPLC

Es incuestionable que la cromatografía de líquidos de alta resolución es la técnica de separación más ampliamente utilizada. Se trata de una técnica de elevada sensibilidad, fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, idónea para la separación de especies no volátiles o termolábiles y, sobre todo, de gran aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria, en muchos campos de la ciencia y para la sociedad en general. Algunos ejemplos de estos materiales incluyen los aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos, hidrocarburos, glúcidos, drogas, terpenoides, plaguicidas, antibióticos, esteroides, especies organometálicas y una variedad de sustancias inorgánicas. Actualmente, HPLC se puede acoplar a espectroscopia de masas obteniendo unas prestaciones analíticas muy buenas.

14.4. Metodología en HPLC

Para llevar a cabo un análisis por HPLC es fundamental tener en cuenta una serie de pasos, que se detallan a continuación.

A) Tratamiento de la muestra

En HPLC se trabaja con muestras líquidas o sólidas previamente disueltas. Para disolverlas se emplea la misma fase móvil que va a utilizarse en el análisis. Si la muestra no fuera completamente soluble en la fase móvil, puede adicionarse ácido fórmico, acético o alguna sal; este procedimiento mejora la solubilidad y no afecta a la separación, siempre y cuando estos agentes se encuentren en bajo porcentaje. Si la muestra es gaseosa se hace burbujear a través de un disolvente adecuado que retiene a los analitos.

Todos los disolventes que se utilicen en el tratamiento de la muestra deben ser de alta pureza o calidad HPLC (figura 14.8.a). La muestra debe filtrarse antes de ser introducida en el sistema con filtros adecuados (figura 14.8.b).



Figura 14.8
Agua calidad HPLC (izquierda).
Filtro para poner a la salida de la jeringa que inyecta la muestra (derecha).
Así se realiza la filtración e inyección de la muestra simultáneamente

B) Elección de fase estacionaria y fase móvil

La elección del sistema cromatográfico debe realizarse en función de la naturaleza de las sustancias que se vaya a separar. Este conocimiento puede aportar una orientación sobre qué mecanismo de separación puede ser más apropiado, en función de la propiedad para la que existen diferencias más notables entre las sustancias que componen la muestra.

No obstante, la mayoría de los protocolos especifican las fases que se han de utilizar. Para poner a punto un nuevo método, pueden ser de gran utilidad las guías de elección de columnas que ofrecen muchas casas comerciales, son guías muy completas y pormenorizadas en función de un gran número de variables.

C) Tratamiento de la fase móvil

Los eluyentes que se van a usar deben filtrarse y desgasificarse antes de su utilización.

D) Purga del sistema

Antes de colocar la columna se debe purgar el sistema de conducciones con la fase móvil a utilizar para evitar restos de otros eluyentes, así como para eliminar las burbujas de aire que pudiera haber.

Normalmente el manual de instrucciones del equipo indica el tiempo de purga necesario, que conviene respetar.

E) Columna

Una vez elegida la columna de trabajo, se coloca en el equipo. Las columnas disponen de una etiqueta en la que, además de informar de qué tipo de columna se trata, se indica con una flecha la dirección que debe seguir el flujo de fase móvil. En primer lugar, se coloca la entrada de la columna a la salida del inyector, se introduce la fase móvil a un flujo bajo, y se espera hasta que salga por el extremo opuesto. Entonces se conecta el final de la columna con el detector.

A continuación, se incrementa el flujo de fase móvil hasta que alcance la velocidad estipulada para el análisis. Este aumento de flujo debe hacerse lentamente.

Siempre que se use una columna por primera vez, después de un almacenamiento prolongado y cada vez que se cambie la fase móvil para un análisis, debe acondicionarse. Esta operación consiste en dejar pasar suficiente fase móvil por la misma, preferiblemente a un flujo bajo. El tiempo requerido para acondicionar una columna depende de su tamaño. Por lo general, se requiere de 10 a 20 veces su volumen para equilibrarla. Si el acondicionamiento se debe a un cambio de fase móvil, no debe hacerse abruptamente, pues la columna podría dañarse. Conviene pasar primero la misma fase móvil que se había usado en el análisis anterior, y pasar a continuación un gradiente lineal de 0% a 100% con la nueva fase móvil.

Para no tener que realizar el acondicionado de la columna por cambio de fase móvil, que además de suponer un gasto de disolventes, puede conllevar la obtención de separaciones cromatográficas no representativas, es recomendable que cada columna se dedique a un método.

F) Desarrollo del método

Seguir el método elegido, seleccionando en el controlador del equipo las condiciones del análisis.

G) Al acabar el análisis

- Lavar adecuadamente la columna, como se indique en sus instrucciones, y en función del uso que haya tenido.
- Si la columna va a ser usada nuevamente en un corto periodo de tiempo, se puede dejar colocada en el sistema. Si no se va a usar en breve (en dos o tres días), se debe retirar, cerrando bien las entradas con los tapones correspondientes para evitar que se seque la fase estacionaria. Se guarda convenientemente a temperatura ambiente. Deben almacenarse con el disolvente que indique el fabricante.
- Lavar la bomba. Si la fase móvil con la que se ha trabajado contenía sales, ácidos o bases, la bomba debe lavarse con la fase móvil pura. Si se va a proceder a un cambio de método entre fase normal y fase inversa, la bomba se lava previamente con una serie de disolventes:

  - Si se va a usar en fase normal: con metanol, isopropanol o acetato de etilo, y por último con hexano.
  - Si se va a usar en fase inversa: isopropanol o acetato de etilo, metanol, y agua en último lugar.

H) Mantenimiento

1. Filtros en línea

Para proceder a la limpieza periódica de los filtros de línea se usarán en primer lugar HNO_3 concentrado, a continuación se enjuaga con agua y se lava con metanol, haciendo pasar agua nuevamente para terminar y poder reinstalarlos nuevamente en el sistema. No obstante, algunas casas comerciales aconsejan su reemplazo, en lugar de su limpieza.

Los filtros de vidrio no deben someterse a la acción de los ultrasonidos, porque el vidrio sinterizado se podría romper o astillar, bloqueando los filtros y disminuyendo la eficacia del sistema. Por el contrario, para lavar un filtro de acero inoxidable puede usarse ultrasonidos en isopropanol.

2. Bomba

Antes de su uso diario, hay que comprobar si el flujo de la bomba es constante. Si se observa que el flujo es débil o intermitente, hay que introducir en el sistema disolvente desgasificado para eliminar posibles burbujas, y limpiar a fondo las válvulas de retención. Cuando se sustituyen los cierres y las válvulas de retención, hay que actuar con cuidado para no dañarlos apretando excesivamente las piezas.

3. Columna

Las columnas pueden deteriorarse por diversas razones, como contaminación, cambio de polaridad o perturbaciones en la geometría de la columna. Periódicamente se deberá comprobar la resolución de la columna por medio de patrones.

Cuando se detecta pérdida de sensibilidad, de resolución o elevación en la presión, se recomienda limpiar la columna. En principio se debe limpiar introduciendo en la misma el disolvente utilizado habitualmente en el análisis, y si con esto no se consigue una mejora, se utilizará disolvente de distinta polaridad, teniendo presente la naturaleza del relleno de la columna (es decir, colocar en sentido contrario) y la necesidad de elegir un disolvente miscible. En ocasiones, invertir la columna y lavarla con un disolvente fuerte permite eliminar bloqueos y contaminación del filtro de entrada. Pero a veces no da buenos resultados, ya que puede alterar el relleno y hacer que el flujo de disolvente sea desigual. Se deben seguir en todo caso las instrucciones del fabricante.

Siempre es conveniente disponer de una columna de repuesto, ya que, si una empieza a fallar, se puede reemplazar por la segunda columna para acabar el trabajo, y luego, tratar de limpiar la que presenta problemas. De esta manera, además, se podrá probar si el origen del inconveniente es la columna o si éste se encuentra en otro lugar del sistema de HPLC.

Una buena práctica de laboratorio es mantener una hoja de registro para cada columna, indicando fecha de uso, fase móvil utilizada, muestra analizada, así como cualquier observación relevante que sea necesario constatar.

14.5. Cromatografía de fluidos supercríticos (FSC)

14.5.1. Fundamento

La temperatura crítica de una sustancia es aquella por encima de la cual esa sustancia en estado gaseoso no puede pasar a estado líquido independientemente de la presión que se aplique. La presión de vapor de la sustancia a su temperatura crítica se denomina presión crítica. A temperatura y presión por encima de la temperatura y presión críticas (es decir, por encima del punto crítico), una sustancia se convierte en un fluido supercrítico.

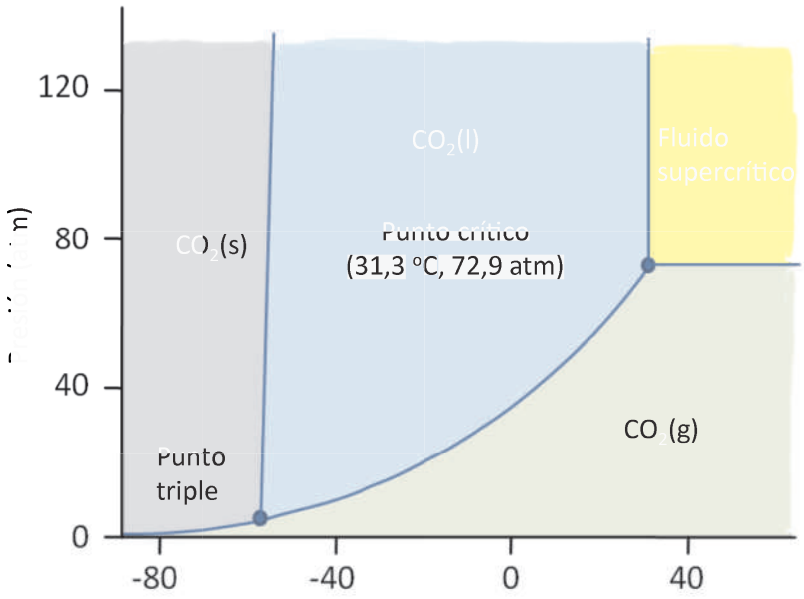


Figura 14.9
Diagrama de fases del CO_2, donde se indica su temperatura y presión críticas

Un fluido supercrítico posee propiedades intermedias entre las características de esa sustancia en estado gaseoso y en estado líquido. Por ejemplo, tiene propiedades de disolvente que se parecen a las de un líquido, pero también exhibe propiedades de transporte parecidas a las de un gas. Los fluidos supercríticos tienen una viscosidad más baja y un coeficiente de difusión más elevado que los líquidos. Cuando la presión de un fluido supercrítico aumenta se incrementa su densidad, y con ella, la solubilidad de un soluto en dicho fluido crece de manera espectacular.

Otra propiedad notable de los fluidos supercríticos es que los analitos disueltos en ellos pueden ser fácilmente recuperados, permitiendo simplemente que las disoluciones se equilibren con la atmósfera a temperaturas relativamente bajas. Otra ventaja es que en general los fluidos supercríticos utilizados son baratos e inocuos, por lo que se pueden dejar evaporar libremente en la atmósfera sin efectos ambientales dañinos. Algunos ejemplos de fluidos supercríticos, con su temperatura y presión críticas, se muestran en el cuadro 14.1.

CUADRO 14.1
Algunos fluidos supercríticos y su temperatura y presión crítica

Fluido supercrítico	Temperatura crítica (ºC)	Presión crítica (atm)
CO_2	31,3	72,9
NH_3	132,5	112,5
Etano	32,4	48,2
Agua	374,3	217,8
N_2O	36,5	71,7

La cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) es una modalidad híbrida entre la cromatografía de gases y de líquidos que combina algunas características de cada una de ellas. Esta técnica permite la separación y determinación de compuestos para los que ni la cromatografía de gases ni la de líquidos sería adecuada: compuestos no volátiles o térmicamente lábiles para los que la cromatografía de gases es inaplicable, y compuestos que tienen grupos funcionales que no son detectables por los detectores comúnmente empleados en cromatografía de líquidos.

En SFC se emplea como fase móvil un fluido supercrítico, siendo el más ampliamente utilizado el CO_2, debido a su fácil accesibilidad, bajo coste e inocuidad, así como al hecho de que es inerte químicamente y no inflamable. Además, es un disolvente excelente para un buen número de moléculas orgánicas no polares. Otros fluidos supercríticos utilizados como fase móvil son etano, butano, óxido de dinitrógeno, diclorodifluorometano, éter dietílico y amoníaco.

La presión de trabajo es una variable muy importante en SFC. Las variaciones de presión tienen un efecto muy marcado sobre el factor de capacidad. Este efecto es una consecuencia del incremento de la densidad de la fase móvil a medida que aumenta la presión. Tal incremento de la densidad origina un aumento de la capacidad disolvente de la fase móvil, lo cual acorta los tiempos de elución. En SFC se suele trabajar durante un periodo de tiempo determinado a presión constante, tras el cual se produce un aumento lineal o asintótico, hasta alcanzar la presión final. De esta forma se consigue un efecto similar al de la programación de la temperatura en CG o la elución en gradiente en HPLC.

14.5.2. Instrumentación

Los equipos instrumentales para la cromatografía de fluidos supercríticos son bastante parecidos a los equipos de HPLC (figura 14.2). Existen, sin embargo, dos diferencias importantes:

- Es necesario un horno, similar al que se emplea en cromatografía de gases, para mantener la columna termostatizada y además controlar la temperatura de la fase móvil.
- Tras la columna se debe colocar un restrictor o dispositivo de contrapresión, cuya función es mantener la presión en la columna en el nivel deseado y convertir el eluyente de fluido supercrítico a un gas.

En cuanto a las columnas, en SFC se emplean mayormente columnas abiertas y, en menor medida, columnas rellenas.

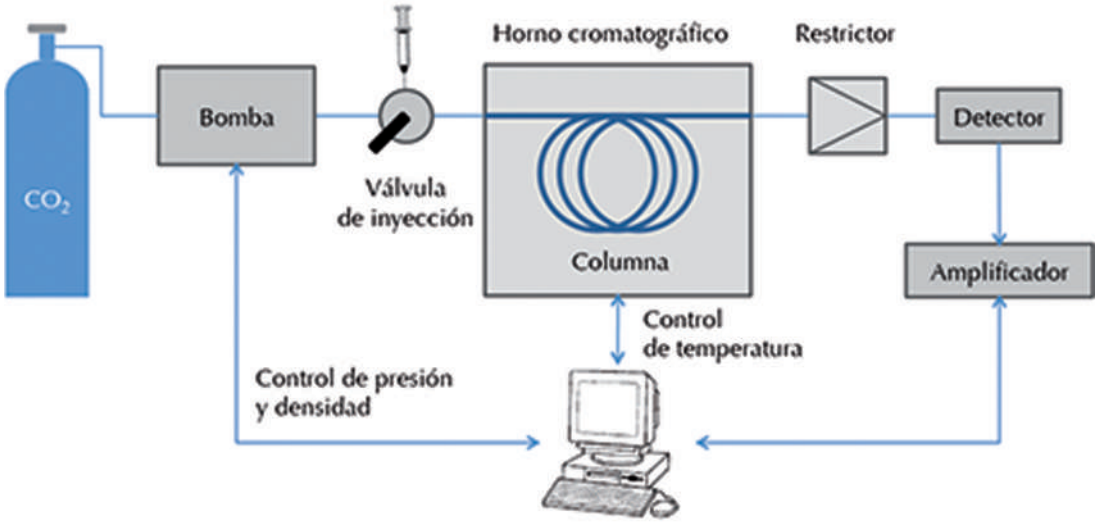


Figura 14.10
Esquema de un instrumento para SFC

14.5.3. Características analíticas y aplicaciones

La técnica de cromatografía de fluidos supercríticos es similar a la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) pero tiene importantes ventajas respecto a esta última: la separación es más rápida y el uso de disolventes orgánicos está minimizado.

SFC se aplica a la separación de un amplio conjunto de sustancias, entre otras: fármacos, alimentos, pesticidas y herbicidas, tensoactivos, polímeros, aditivos de polímeros, combustibles fósiles y explosivos, propelentes, etc.

Resumen

HPLC es la técnica de separación más ampliamente utilizada. Emplea como relleno partículas de tamaño muy pequeño, que con gran frecuencia están constituidas por sílice, y se impulsa a la fase móvil con altas presiones. Los equipos se configuran con un sistema de suministro de la fase móvil y un detector, además de la columna.

La cromatografía de reparto es la modalidad más utilizada, y puede llevarse a cabo en fase normal o reversa, siendo esta última la más habitual.

Los análisis se llevan a cabo siguiendo una metodología determinada, detallada en el capítulo, en la que hay que resaltar, como aspectos clave para conseguir resultados óptimos, la elección adecuada de la columna y de la fase móvil.

Por otra parte, la cromatografía de fluidos supercríticos o SFC es una modalidad híbrida entre la cromatografía de gases y de líquidos. Se utiliza como fase móvil un fluido supercrítico, siendo el más frecuente el CO_2, lo que le confiere una especial capacidad para la separación de muestras para las que ni CG ni HPLC son adecuadas.

Práctica n.º 17

Determinación de cafeína en un comprimido por cromatografía líquida

Objetivos

- Aprender el manejo correcto de un cromatógrafo de líquidos.
- Determinar la concentración de cafeína en un comprimido por HPLC.
- Saber interpretar los resultados analíticos.

Procedimiento

1. Preparación de la fase móvil. Se usará una mezcla de metanol/agua en proporción 1:1. Desgasificar y filtrar convenientemente.
2. Purgar el sistema. Elegir y acondicionar la columna.
3. Preparación de patrones. Preparar 100 mL de una disolución madre de cafeína de 0,500 g/L utilizando como disolvente la fase móvil. Tomar de la misma los siguientes volúmenes: 2,00 mL; 5,00 mL y 10,00 mL, y llevarlos a un volumen final de 50 mL.
4. Seleccionar las condiciones del análisis.
   - Columna C8.
   - Flujo de 0,7 mL/min.
   - Volumen de inyección: 40 µL (bucle 20 µL).
   - Longitud de onda de detección: 273 nm.
5. Análisis de patrones. Inyectar cada uno de los patrones preparados en el HPLC. Obtener el tiempo de retención, altura de pico y área de pico. Obtener la curva de calibración.

[.../...]

Procedimiento	6. Análisis de la muestra. Disolver el comprimido que se va a analizar previa pulverización en un mortero y llevar a un volumen de 100 mL. Filtrar la disolución obtenida y hacer una dilución adecuada de la misma, en base al contenido teórico en cafeína del comprimido. Inyectar en el HPLC la muestra, y obtener, en las mismas condiciones de trabajo que se usaron para los patrones, el tiempo de retención y la altura y área del pico de interés. 7. Utilizando la curva de calibración, determinar los miligramos de cafeína en el comprimido analizado, y comparar con el valor dado por el fabricante.
Nota	Utilizar disolventes calidad HPLC.

Práctica n.° 18

Determinación de cafeína, ácido benzoico y aspartamo en refrescos por cromatografía líquida

Objetivos

- Aprender el manejo correcto de un cromatógrafo.
- Determinación de varios compuestos en una bebida, previa separación por HPLC.
- Saber interpretar los resultados analíticos.

Fundamento

Los tres aditivos seleccionados pueden ser separados mediante cromatografía líquida en su modalidad de fase inversa, pues se trata de compuestos orgánicos de baja-media polaridad. Los tres compuestos además presentan absorbancias adecuadas en el ultravioleta, siendo posible su detección simultánea con adecuada sensibilidad a 218 nm.

Procedimiento

1. Preparación de la fase móvil. Usar una mezcla metanol/agua acidulada con H_3PO_4 (pH=3), en proporción 45:55, v/v. Desgasificar y filtrar convenientemente.
2. Purgar el sistema. Elegir y acondicionar la columna.
3. Preparación de patrones. A partir de disolución patrón de cafeína (500 mg/L), ácido benzoico (500 mg/L), y aspartamo (1000 mg/L), tomar los volúmenes indicados en la tabla y llevar a 25 mL en matraces aforados:

Matraz	patrón cafeína (mL)	patrón ác. benzoico (mL)	patrón aspartamo (mL)
1	5		
2		5	
3			5
4	2	2	2
5	3	3	3
6	4	4	4

[.../...]

Procedimiento	4. Análisis de patrones. Seleccionar las condiciones del análisis. Inyectar 20 µL de cada uno de los patrones preparados en el equipo.A partir de las disoluciones 1, 2 y 3 obtener los tiempos de retención. A partir de los valores del área de los picos de los patrones, obtener las curvas de calibración correspondientes a cada una de las sustancias analizadas. 5. Análisis de la muestra. Desgasificar la muestra. Tomar una alícuota de la muestra de 5 mL y añadir otros 5 mL de agua calidad HPLC. Inyectar 20 µL de la dilución de la muestra en el equipo. Obtener las áreas de los compuestos de interés, los cuales se identifican a través de los tiempos de retención. 6. Utilizando las curvas de calibración, determinar la concentración de cafeína, ácido benzoico y aspartamo en la bebida analizada, expresando el resultado como mg de aditivo en 100 mL de bebida.



Ejercicios propuestos

1. Buscar en internet guías de casas comerciales sobre elección de columnas en función del tipo de muestra que se va a analizar.
2. Se va a hacer un análisis cromatográfico de trihalometanos en agua potable: $CHCl_3$, $CHBr_3$, $CHCl_2Br$, $CHClBr_2$. Se va a emplear una columna empaquetada con una fase estacionaria no polar. ¿Cuál será el orden previsible de elución de los cuatro trihalometanos?
3. Descarga el simulador http://hplcsimulator.org/index.php. Trabajar con el mismo observando sobre todo cómo influyen los cambios de los diversos parámetros del cromatógrafo en los resultados.
4. Se pesan 0,0210 g de ácido ascórbico y se disuelven llevándolos a un volumen final de 100 mL. Se toman 5 mL de la disolución preparada y se llevan a un matraz aforado de 50 mL. De esta dilución se inyectan en un cromatógrafo de líquidos 20 µL, obteniéndose un área de 113. A continuación se tratan 5000 gramos de mermelada en 100 mL de agua, y del extracto, previamente filtrado, se toman 20 µL y se inyectan en el equipo analizándose en las mismas condiciones del patrón. Se obtiene un área de 140. Calcula el contenido en ácido ascórbico en mg/kg de mermelada analizada.
5. ¿Qué orden de salida cabe esperar para los siguientes compuestos, si son eluidos en una columna con relleno de fase inversa?

   a) n-hexano, benceno

   b) Acetato de etilo, ácido acético

   c) Diclorobenceno, benceno

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. Se analiza cafeína y aspartamo en una bebida refrescante. Al obtener el cromatograma de la bebida, se observan 9 picos. ¿Qué significa?:

   ☐ *a)* Que el análisis no se ha hecho bien.
   ☐ *b)* Que existen 7 picos fantasmas.
   ☐ *c)* Que además de las dos sustancias analizadas, en la bebida existen otros componentes.

2. En la cromatografía líquida de fase inversa la fase estacionaria es de naturaleza:

   ☐ *a)* No polar.
   ☐ *b)* Polar.
   ☐ *c)* Iónica.

3. En cromatografía líquida de fase inversa:

   ☐ *a)* El componente más apolar sale antes de la columna.
   ☐ *b)* El componente más polar sale antes de la columna.
   ☐ *c)* El componente de mayor masa molecular sale antes de la columna.

4. En HPLC antes de la columna analítica y para aumentar su vida útil conviene usar:

   ☐ *a)* Una microcolumna.
   ☐ *b)* Una precolumna.
   ☐ *c)* Un termostato.

5. El detector de conductividad es el más utilizado en HPLC cuando los componentes de la muestra que se desea analizar son:

   ☐ *a)* Compuestos iónicos.
   ☐ *b)* Compuestos con capacidad de oxidarse o reducirse.
   ☐ *c)* Compuestos fluorescentes.

6. El factor de capacidad en SFC depende sobre todo de:

   ☐ *a)* La temperatura.
   ☐ *b)* La composición de la fase móvil.
   ☐ *c)* La presión.

SOLUCIONES:

1. a b **c**	**3.** a **b** c	**5.** **a** b c
2. **a** b c	**4.** a **b** c	**6.** a b **c**

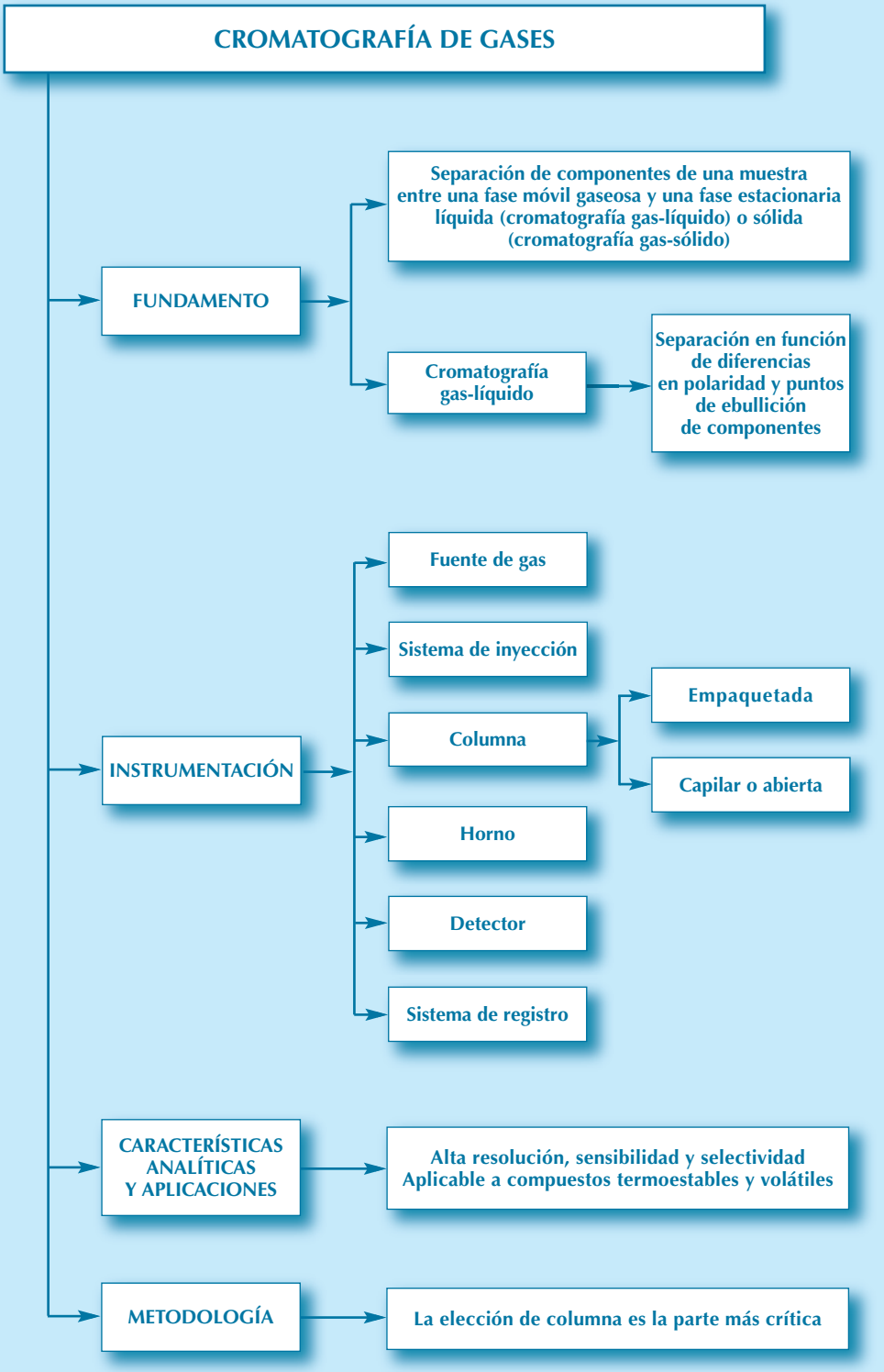
15

Cromatografía de gases

Objetivos

1. Entender los fundamentos de una separación por cromatografía de gases.
2. Conocer las partes constituyentes de un cromatógrafo de gases.
3. Manejar un cromatógrafo de gases, controlando las variables que influyen en el proceso.
4. Realizar el mantenimiento de las diferentes partes de un equipo de cromatografía de gases.
5. Obtener resultados cromatográficos e interpretarlos convenientemente.

Mapa conceptual del capítulo


CROMATOGRAFÍA DE GASES
FUNDAMENTO
Separación de componentes de una muestra entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida (cromatografía gas-líquido) o sólida (cromatografía gas-sólido)
Cromatografía gas-líquido
Separación en función de diferencias en polaridad y puntos de ebullición de componentes
INSTRUMENTACIÓN
Fuente de gas
Sistema de inyección
Columna
Empaquetada
Capilar o abierta
Horno
Detector
Sistema de registro
CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS Y APLICACIONES
Alta resolución, sensibilidad y selectividad
Aplicable a compuestos termoestables y volátiles
METODOLOGÍA
La elección de columna es la parte más crítica

Glosario

Capacidad de carga. Es la cantidad de muestra que se puede inyectar sin pérdida apreciable de eficacia. Está relacionada con la cantidad de fase estacionaria por unidad de longitud de la columna.

Controladores de flujo másico. Dispositivos electrónicos que proporcionan un caudal directamente en unidades de masa. Se basan en la elevación de temperatura que experimenta un fluido en contacto con un cuerpo caliente, en función del caudal.

Dimetilclorosilano. Compuesto químico que responde a la fórmula $Si(CH_3)_2Cl_2$.

Escualano. Se trata de un hidrocarburo de alta masa molecular, cuya fórmula química es 2,6,10,15,19,23-hexametiltetracosano ($C_{30}H_{62}$). Se obtiene por hidrogenación del escualeno ($C_{30}H_{50}$).

Medidor de flujo de pompas de jabón. Medidor de caudal de gas constituido por un tubo de vidrio con una pera en la parte inferior conteniendo una disolución acuosa de jabón o detergente. Al apretar la pera se forma una película de jabón en el tubo que es atravesado por el gas. Se mide el tiempo necesario para que esta película recorra el espacio entre dos marcas del tubo de vidrio que definen un volumen determinado, y a partir de esa medida se calcula el caudal.

Radiación beta. Emisión de electrones (o positrones) de alta velocidad producida en ciertos procesos de desintegración radiactiva.

Rotámetro. Medidor de caudal que consiste en un flotador que se mueve libremente dentro de un tubo vertical ligeramente cónico que lleva grabada una escala vertical. El fluido entra por la parte inferior y el flotador sube hasta que el área anular entre él y la pared del tubo sea tal que la caída de presión de este estrechamiento sea lo suficiente para equilibrar el peso del flotador.

Termistor. Semiconductor térmicamente sensible cuya resistencia varía con la temperatura.

Ultratrazas. Aunque no hay un acuerdo muy generalizado, el término *traza* se aplica a los componentes de una muestra que están en una concentración inferior a 0,01% y el término *ultratraza* se emplea para concentraciones inferiores a ng/mL.

15.1. Introducción

Para realizar una separación mediante cromatografía de gases (CG), se inyecta y volatiliza una pequeña cantidad de muestra en una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de un gas inerte, que constituye la fase móvil. Esta corriente de gas atraviesa la columna cromatográfica arrastrando así a los componentes de la muestra, que se van separando en función del grado en que interaccionan con la fase estacionaria. El orden de elución estará determinado por la volatilidad de los componentes. Los componentes separados emergerán de la columna a intervalos discretos y pasarán a través de un sistema de detección adecuado o serán dirigidos hacia un dispositivo de recogida de muestras.

En cromatografía de gases la fase móvil no interacciona con las moléculas de la muestra; su única función es la de transportarlas a través de la columna. Por ello, se suele denominar con frecuencia gas portador.

Existen dos tipos de cromatografía de gases:

– *Cromatografía gas-líquido.* Se basa en la distribución de los componentes de la muestra entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte. Las sustancias se separan en función de su volatilidad y según las diferencias de solubilidad en la fase estacionaria.

  Tiene muchísimas aplicaciones en todos los campos de la ciencia, y comúnmente la denominación de "cromatografía de gases" se refiere a esta técnica. A lo largo del capítulo se tratará únicamente este tipo de cromatografía.

– *Cromatografía gas-sólido.* La fase estacionaria es sólida, y la separación de los componentes de la muestra se produce según su volatilidad y su capacidad para ser adsorbidos por la fase estacionaria. La aplicación de esta modalidad es muy limitada, debido a que muchas moléculas son retenidas en exceso por el sólido, de forma que el gas portador no puede arrastrarlas, dando lugar a tiempos de retención muy largos y a la obtención de picos de elución con colas importantes. Tiene aplicaciones muy limitadas.

  Todos los principios generales de la cromatografía vistos en el capítulo 13 son aplicables a la cromatografía de gases, salvo algunas modificaciones motivadas por las diferencias entre el estado líquido y el estado gaseoso.

15.2. Instrumentación

Los componentes fundamentales de un cromatógrafo de gases se muestran en la figura 15.1. Básicamente son la fuente de gas, el sistema de inyección, la columna cromatográfica y el horno, el detector y el sistema de registro.

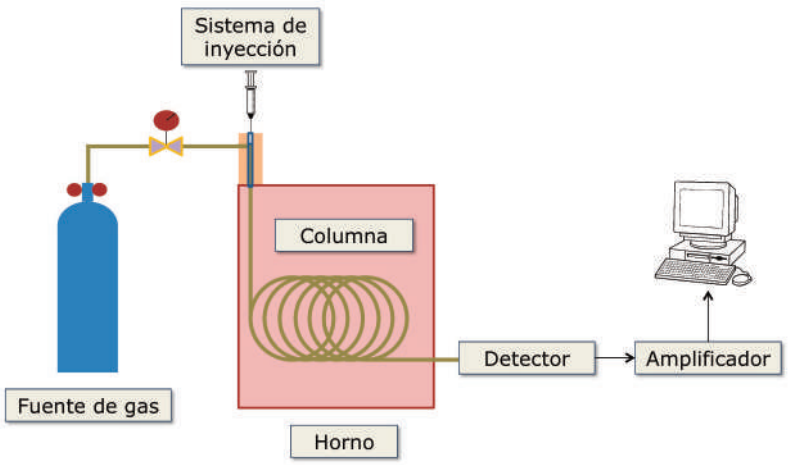


Figura 15.1
Esquema de un cromatógrafo de gases

15.2.1. Fuente de gas

El gas portador debe ser una especie químicamente inerte, no debe reaccionar con la muestra, ni con la fase estacionaria ni con las superficies del instrumento. Además debe ser puro y relativamente barato. Entre los gases portadores de mayor uso se encuentran el helio, el nitrógeno, el hidrógeno y el argón. La elección de uno u otro viene determinada muchas veces por el tipo de detector que se use.

Como fuente de gas se utilizan normalmente cilindros de gas comprimido de elevada pureza, capaces de suministrar una presión de gas adecuada y constante. En muchos casos es necesario eliminar las trazas de impurezas (O_2, H_2O e hidrocarburos, fundamentalmente) que pueda contener el gas, por medio de dispositivos adecuados, comúnmente denominados trampas. Es importante el orden de estos dispositivos para que su eficacia sea máxima: a partir de la fuente de gas primero se dispone el filtro de humedad, luego el de hidrocarburos y, por último, el de oxígeno. También se pueden usar trampas multifunción, que son filtros con varios adsorbentes para los diferentes tipos de contaminantes. De esta forma se disminuye el número de conexiones reduciéndose la posibilidad de fugas.

El control de la velocidad de gas a través de la columna se realiza por medio de reguladores de presión y manómetros. Para medir el flujo de gas pueden usarse rotámetros, el método de la burbuja de jabón, controladores másicos de flujo, o sistemas más modernos de control, como los controladores electrónicos de presión.

No se debe permitir que el gas de un cilindro se agote, ya que los contaminantes que pueda haber en el cilindro se desorben a medida que disminuye la presión en su interior. Estos contaminantes son propensos a entrar en el sistema y causar problemas. Se pueden instalar alarmas para la detección de nivel bajo de gas.

PARA SABER MÁS

Generadores de gas

Los cromatógrafos de gases tradicionalmente han usado gas comprimido en cilindros, pero actualmente, por seguridad y comodidad, se comienzan a usar generadores de gas. Son unidades compactas, que pueden estar localizadas muy cerca del equipo, producen gas de alta pureza, reducen costes y minimizan riesgos con respecto a los cilindros: el volumen total de gas es pequeño y las presiones son más bajas. Además cuentan con mecanismos de seguridad internos que apagan automáticamente el generador si la presión aumenta o disminuye drásticamente.

Por ejemplo, un generador de hidrógeno disocia electrolíticamente el agua en hidrógeno y oxígeno. El hidrógeno es purificado por cromatografía y el oxígeno evacuado.

15.2.2. Sistemas de inyección

La cromatografía gaseosa puede utilizarse para cualquier tipo de muestra, ya sea sólida, líquida o gaseosa, siempre que sus componentes sean estables a la temperatura de trabajo. De forma general la CG es aplicable a la separación y el análisis de muestras cuyos componentes tengan puntos de ebullición de hasta 300 °C. Todos los componentes que se introduzcan en la columna han de ser volátiles. Los compuestos con escasa volatilidad pueden ser retenidos por la columna, y eluir más tarde, cuando se esté realizando un análisis posterior, dando lugar a los denominados picos fantasma. Por otro lado, los componentes no volátiles se condensan en la columna, deteriorándola.

Es posible de todas formas analizar compuestos no volátiles, si se transforman en derivados volátiles por las reacciones apropiadas. Otra opción es extraer los analitos volátiles del resto de la muestra no volátil, para lo que se pueden emplear diversas técnicas.

La forma de introducir la muestra en el cromatógrafo de gases va a depender del estado físico de la misma (sólido, líquido o gaseoso), así como del rango de concentraciones de las sustancias que la componen y de las condiciones cromatográficas (columna, detector, velocidad de la fase móvil, etc.).

A) Muestras líquidas

El estado de la muestra más frecuente es líquido. Los dos sistemas generales para su introducción en el cromatógafo son las válvulas rotatorias, ya descritas en el capítulo anterior, y las jeringas de inyección. Este último sistema es el más utilizado, y consiste en introducir la muestra con una microjeringa a través de un diafragma o "septum" de silicona, a una cámara de vaporización instantánea (figura 15.2). La cámara se calienta a una temperatura suficientemente alta para pasar de forma prácticamente instantánea la muestra líquida a vapor. Como regla general se debe llegar a una temperatura de 50 °C por encima de la temperatura de ebullición del componente menos volátil. A través de la cámara pasa el gas portador que arrastra a la muestra ya vaporizada a la columna.

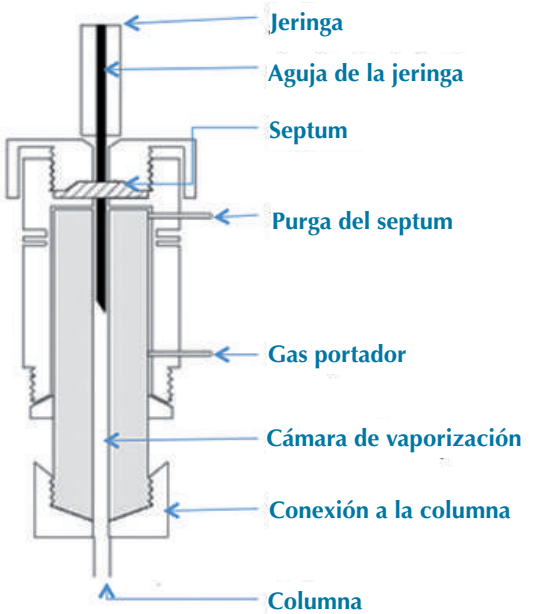


Figura 15.2
Inyector con jeringa y cámara de vaporización

El sistema de inyección con jeringa también puede realizarse mediante el método de división de flujo (también denominado "split"). Consiste en introducir un volumen relativamente grande de muestra (0,1-1 μL), que se vaporiza y se mezcla con el gas portador; a continuación el flujo se divide en dos partes muy desiguales, la más grande se desecha y la menor es la que pasa a la columna. Es el sistema más habitual cuando se utilizan columnas de tipo capilar, pues exigen menores cantidades de muestra.

Otra alternativa es la inyección de la muestra directamente en la columna. En estos casos, la aguja, con un diámetro suficientemente pequeño, llega hasta el relleno de la propia columna, donde se deposita directamente la muestra, de manera que la banda cromatográfica se forma directamente sobre la fase estacionaria. Esta modalidad se usa en el caso de muestras que podrían descomponerse si se calientan por encima de su punto de ebullición. Al principio se opera a una temperatura relativamente baja, y la separación ocurre cuando se eleva la temperatura.

B) Muestras gaseosas

Las muestras gaseosas se introducen utilizando uno de los dos sistemas anteriores, pero en este caso lo más usual son las válvulas rotatorias, que son más reproducibles.

C) Muestras sólidas

Las muestras sólidas comúnmente se disuelven en un disolvente adecuado y su introducción se realiza igual que las muestras líquidas. Existen también sistemas en los que la muestra sólida se encapsula en un capilar de vidrio, introduciéndolo así en el bloque de inyección calentado, donde se rompe el capilar por medios mecánicos.

En cromatografía de gases, al igual que en HPLC, se puede introducir la muestra de forma automatizada, con muestreadores automáticos que poseen una excelente reproducibilidad mecánica (figura 15.3).

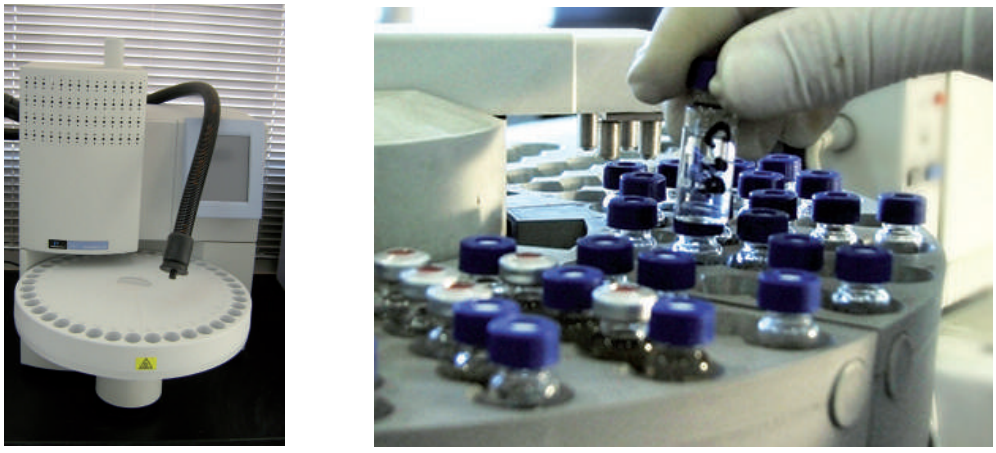


Figura 15.3
Muestreadores automáticos

PARA SABER MÁS

Muestreo de espacio de cabeza

El muestreo de espacio de cabeza es una forma especial de introducir la muestra en el cromatógrafo. Mediante esta técnica se determinan directamente los constituyentes volátiles de muestras sólidas o líquidas analizando la fase de vapor que se encuentra en equilibrio termodinámico con la muestra en un recipiente cerrado.

La muestra se introduce en un frasco de vidrio que se cierra con un septum de caucho. El frasco se calienta hasta que se establece el equilibrio con la fase gaseosa, a la que se denomina espacio de cabeza. Se toma entonces una cantidad conocida de dicha fase con una jeringa, de forma manual o automática, o bien se arrastran los componentes volátiles con una corriente de gas inerte (figura 15.4).

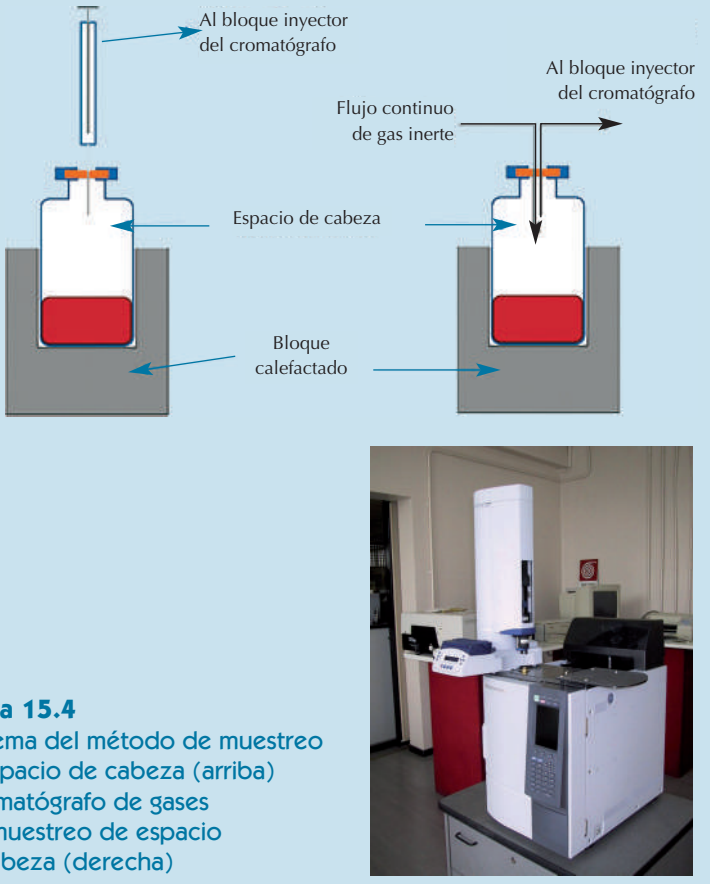

Al bloque inyector del cromatógrafo
Al bloque inyector del cromatógrafo
Flujo continuo de gas inerte
Espacio de cabeza
Bloque calefactado

Figura 15.4
Esquema del método de muestreo de espacio de cabeza (arriba) y cromatógrafo de gases con muestreo de espacio de cabeza (derecha)

Este método es especialmente útil cuando solo interesa el vapor sobre la muestra, como en el caso de los perfumes o productos alimenticios, o de los constituyentes orgánicos volátiles de muestras como orina, respiración humana o muestras ambientales.

15.2.3. Columnas

En cromatografía gaseosa se utilizan tanto columnas empaquetadas como columnas capilares, siendo en la actualidad el uso de las segundas mucho más frecuente, debido a su eficacia y rapidez.

A) Columnas empaquetadas

Son tubos que se fabrican con vidrio, metal (acero inoxidable, aluminio, etc.) o teflón, y tienen longitudes comprendidas normalmente entre 1 y 6 metros, aunque pueden llegar a medir 50 m o más. El diámetro interno oscila entre 2 y 6 mm. Para poder ser instaladas en el interior del horno termostatizado, normalmente se configuran en forma helicoidal (figura 15.5).



Figura 15.5
Columna cromatográfica empaquetada

Estos tubos se rellenan densamente con un soporte sólido, finamente dividido y homogéneo, que se recubre con una delgada capa de fase estacionaria líquida.

El soporte sólido más utilizado es la tierra de diatomeas, de procedencia natural, formada por esqueletos silíceos de miles de especies de plantas unicelulares que habitaban antiguos mares y lagos. Estas partículas son muy porosas, con superficies específicas muy altas, lo que proporciona un amplio contacto entre las fases estacionaria y líquida. Por tratamientos térmicos de la tierra de diatomeas, con o sin adición de fundentes, se obtienen soportes con diversas características, que son conocidos con diferentes denominaciones comerciales, siendo "chromosorb" una de las más utilizadas.

Un problema que puede darse en los soportes sólidos porosos es que tienen cierta actividad residual, por lo que se puede producir la adsorción de los analitos más polares sobre su superficie. Esto da lugar a picos distorsionados. Para evitarlo, se deben desactivar los grupos activos de la superficie del relleno. La inactivación se puede hacer con lavados ácidos o básicos o haciendo reaccionar a los grupos activos con reactivos adecuados. Por ejemplo, el dimetilclorosilano reacciona con los grupos silanol (-SiOH), inactivándolos (este proceso se denomina silanización).

Otros soportes que se utilizan actualmente son el teflón y las microbolas de vidrio o de polímero orgánicos, que tienen la ventaja de ser más inertes.

B) Columnas capilares o abiertas

Las columnas capilares o abiertas son tubos de una longitud de 5 a 50 metros, pudiendo llegar a los 100 metros, y con un diámetro siempre inferior a 1 mm (figura 15.6).

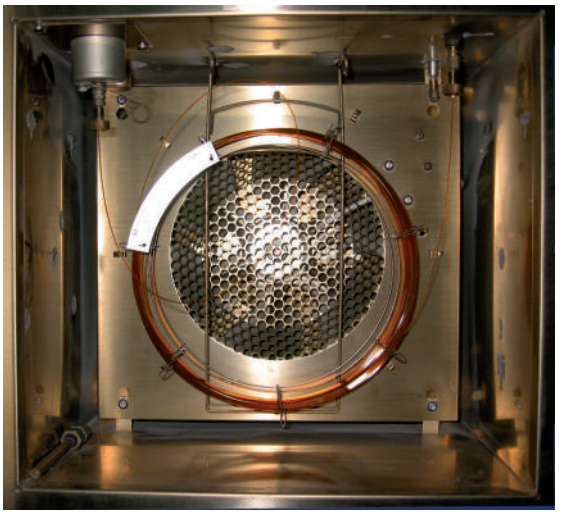


Figura 15.6
Horno de un cromatógrafo de gases con columna capilar

Pueden ser de dos tipos básicos, (a) de pared recubierta y (b) recubiertas con soporte (figura 15.7):

a) Columnas capilares de pared recubierta (WCOT, por sus siglas en inglés). Son columnas cuya pared interna está recubierta por una fina capa de fase estacionaria.

b) Columnas capilares recubiertas con soporte (SCOT, por sus siglas en inglés). En su superficie interna existe una fina capa de un soporte sólido revestido por una fase estacionaria líquida. Estas columnas pueden recibir mayor cantidad de muestra (más capacidad de carga), pues pueden albergar mayor cantidad de fase estacionaria. Son menos eficaces que las anteriores, pero más que las columnas empaquetadas.

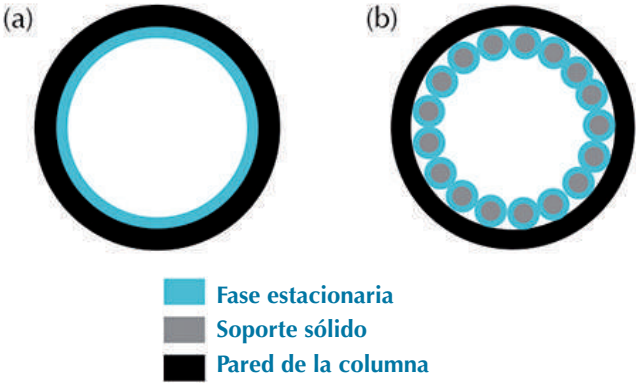


Figura 15.7
Sección transversal de una columna capilar (a) de pared recubierta o WCOT, y (b) recubierta con soporte o SCOT

Las columnas capilares son considerablemente más eficaces que las empaquetadas, que ya se encuentran en desuso. Esto es debido a que las capilares, al carecer de material empaquetado, pueden ser de mayor longitud, sin que la presión de trabajo tenga que ser excesivamente grande. Si bien es cierto que las columnas empaquetadas pueden aceptar muestras de mayor tamaño.

C) Fase estacionaria para cromatografía gas-líquido

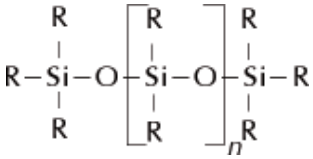
Las fases estacionarias líquidas deben cumplir una serie de requisitos.

- Amplio rango de temperaturas de trabajo, no siendo volátiles en ese rango.
- Estabilidad térmica.
- Estabilidad química.
- Interaccionar selectivamente con los componentes de la muestra.

La elección de la fase líquida dependerá de la composición de la muestra que se vaya a separar. En general, la fase líquida debe tener una estructura química similar a la de los componentes de la muestra: las sustancias polares se separan mejor en fases estacionarias polares, y viceversa.

Se han desarrollado cientos de fases estacionarias, pero solo unas pocas se usan habitualmente. Se pueden clasificar en función de su polaridad:

- *Fases polares.* En este grupo se encuentran las fases a base de polietilenglicol. Comercialmente estas fases reciben el nombre de "Carbowax", seguido de un número. El número indica la masa molecular media del polímero, que cuanto menor es, mayor polaridad.
- *Fases moderadamente polares.* A este grupo pertenecen los poliésteres.
- *Fases no polares*. Constituidas por hidrocarburos de elevado peso molecular, como el escualano. Se utilizan en la separación de compuestos no polares, como los hidrocarburos saturados.
- *Fases con diferente polaridad*. En este grupo se encuentran las siliconas o polidimetilsiloxanos. Responden a la estructura general siguiente:



Si los grupos –R son todos $-CH_3$ la fase es no polar. Según se van sustituyendo los grupos $-CH_3$ por otros radicales, se incrementa la polaridad de la fase. Además de esta versatilidad en cuanto a polaridad, son fases con una gran estabilidad térmica y permanecen en estado líquido en un amplio rango de temperaturas, por lo que son muy usadas.

Un problema importante en todas las fases estacionarias líquidas es su tendencia al "sangrado", es decir, a eluir de la columna. Este hecho se incrementa mucho si se sobrepasa la temperatura máxima de trabajo que posee cada fase, o cuando debe limpiarse la columna para eliminar contaminantes. Para evitarlo se usan fases estacionarias polimerizadas y enlazadas. Implica la unión, me-

diante una reacción química, de una capa de la fase estacionaria a la superficie de sílice de la columna. Muchas veces la naturaleza de las reacciones utilizadas son objeto de patente.

PARA SABER MÁS

Utilización de fases estacionarias mixtas

Para conseguir selectividades más elevadas en cromatografía de gases, se pueden utilizar mezclas de dos o más fases estacionarias. La preparación de estas fases mixtas puede hacerse de varias formas:

- Utilizando fragmentos de fases estacionarias diferentes, que se disponen en serie a lo largo de la columna.
- Preparando columnas de lecho mixto, en las que cada una de las fases estacionarias, ya depositadas sobre un soporte adecuado, se mezclan en unas determinadas proporciones.
- Haciendo una mezcla de fases estacionarias diferentes, que luego se deposita sobre el soporte sólido.

15.2.4. Horno

En la cromatografía de gases es fundamental obtener una temperatura adecuada en la columna para logar una buena separación. Por ello, la columna va alojada en un horno con termostato, que permite controlar la temperatura con una precisión de décimas de grado. La columna no debe entrar en contacto con las paredes del horno (figura 15.6).

La separación se puede hacer de forma isotérmica, manteniendo la columna a una temperatura constante. Normalmente esta temperatura se establece igual o ligeramente superior al punto de ebullición promedio de la muestra, obteniendo así tiempos de elución razonables.

Para muestras cuyos componentes presentan un amplio intervalo de temperaturas de ebullición, es conveniente emplear la programación de temperatura; se comienza a una temperatura inicial por debajo del punto de ebullición más bajo de los componentes, y según va progresando la separación, se incrementa lentamente la temperatura, a ritmo constante, o mediante una serie de ascensos regulares.

El horno de la columna debe poder ser calentado y enfriado rápidamente. Esto requiere de un sistema de flujo de aire adecuado y bien diseñado. En la mayoría de los diseños el chorro de aire pasa a través de las resistencias de calentamiento, después por medio de deflectores que conforman la pared interior del horno, pasa por la columna y vuelve al ventilador para volver a calentarse y recircular.

15.2.5. Detectores

A continuación se describen los detectores más frecuentes en cromatografía de gases. Estos detectores muchas veces se conocen por sus siglas en inglés.

A) Detector de ionización de llama (FID)

El efluente de la columna se mezcla con hidrógeno y aire, para luego encenderse la llama eléctricamente. La combustión de un compuesto orgánico en la llama de hidrógeno/aire produce electrones e iones. Si se aplica un potencial, se desarrollará una pequeña corriente, que puede amplificarse dando una señal analítica útil.

Cuando se produce la ionización de un compuesto que contiene carbono, se observa que el número de iones que se generan es relativamente proporcional al de átomos de carbono transformados. Por tanto, el detector de ionización de llama es sensible a la masa: a mayor masa, mayor número de átomos de carbono, y en consecuencia, más iones se formarán y mayor será la corriente.

Este detector es el más extensamente usado, pues tiene una elevada sensibilidad, un gran intervalo de respuesta lineal y un bajo ruido. El inconveniente es que es destructivo con lo que la muestra no puede someterse a análisis posteriores en caso de ser necesarios.

B) Detector de conductividad térmica (TCD)

Este detector se basa en los cambios de la conductividad térmica de la fase móvil ocasionados por la presencia de los componentes de la muestra. El gas portador al salir de la columna pasa sobre un filamento de wolframio o un termistor. La resistencia eléctrica de este filamento depende de su temperatura, que, a su vez, es función de la conductividad térmica de la fase móvil. Cuando un componente sale de la columna, la conductividad térmica de la fase móvil disminuye, y la temperatura y la resistencia del filamento aumentan.

Una célula de referencia, a través de la cual pasa el gas portador, corrige las variaciones de caudal, presión o corriente eléctrica.

Dado que el helio y el hidrógeno poseen una gran conductividad térmica, son los gases portadores de elección para cuando se utilizan estos detectores.

El detector de conductividad térmica es muy sencillo, tiene un amplio intervalo lineal y no es destructivo, pero su sensibilidad es relativamente baja. Este inconveniente hace que no puedan ser usados con columnas capilares, debido al pequeño tamaño de muestra con el que estas columnas trabajan.

C) Detector de captura electrónica (ECD)

Se utiliza una fuente de radiación beta. Los electrones emitidos ionizan al gas portador, que suele ser nitrógeno, provocando la emisión de electrones adicionales que originan una corriente eléctrica entre un par de electrodos. La corriente disminuye significativamente en presencia de los componentes de la muestra, dado que capturan a los electrones. La caída de corriente actúa como señal analítica.

Son detectores muy selectivos para compuestos que contienen grupos funcionales electronegativos (compuestos halogenados, por ejemplo). Tiene un límite de detección muy bueno, pero su respuesta lineal es limitada.

D) Detector de emisión atómica (AED)

El gas de salida de la columna se introduce en un plasma de helio obtenido por microondas. La alta temperatura alcanzada en el interior del plasma es suficiente para atomizar y excitar todos los elementos de la muestra. Al volver al estado fundamental los átomos emiten radiación, que se colima y se refleja en una red de difracción, descomponiéndose en sus longitudes de onda individuales y recogiéndose en una fila de diodos, capaces de detectar la radiación emitida desde 170 a 780 nm.

E) Detector termoiónico de llama (FTD)

El detector termoiónico es un detector selectivo de los compuestos orgánicos que contienen fósforo y nitrógeno. Es mucho más sensible en comparación con el detector de ionización de llama para estos compuestos.

La configuración es similar al detector de llama. El efluente de la columna se mezcla con hidrógeno y pasa a través de la llama. El gas caliente fluye alrededor de una perla de silicato de rubidio (u otro metal alcalino) calentada eléctricamente. Se forma un plasma donde se producen una gran cantidad de iones a partir de las moléculas que contienen fósforo o nitrógeno, originándose una corriente proporcional a la cantidad presente en la muestra.

PARA SABER MÁS

Técnicas acopladas

La cromatografía de gases a menudo se combina con otras técnicas selectivas, como las espectroscopías, dando lugar a las técnicas acopladas.

El cromatógrafo separa los componentes de la muestra, y la técnica acoplada aporta la información cualitativa de cada uno de los componentes. Así, un cromatógrafo de gases se puede acoplar con la espectroscopía de masas, la espectroscopía de infrarrojo, o la resonancia magnética nuclear.

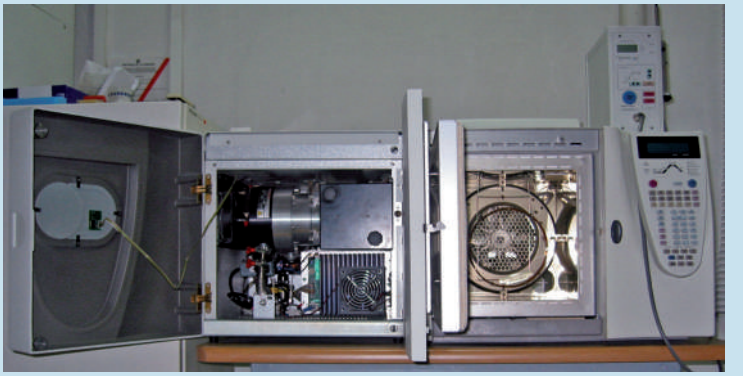


Figura 15.8
Cromatógrafo de gases con espectrómetro de masas acoplado

15.3. Características analíticas y aplicaciones

La cromatografía de gases es una técnica analítica usada de forma habitual en multitud de laboratorios, debido a su alta resolución, sensibilidad y selectividad. Es la técnica que ofrece mayor poder de resolución para compuestos orgánicos volátiles. En cuanto a la escala de operación, se pueden medir tanto componentes mayoritarios como ultratrazas.

El tiempo de análisis puede oscilar entre varios minutos, cuando las muestras poseen pocos componentes, a más de una hora cuando se analizan muestras muy complejas. La preparación preliminar de la muestra puede aumentar sustancialmente el tiempo total del análisis.

Respecto a la cromatografía líquida, la cromatografía de gases tiene la ventaja de disponer de detectores mucho más universales (por ejemplo, el de ionización de llama). Además, para numerosas aplicaciones, los métodos son más simples, más rápidos y más sensibles que los correspondientes a la cromatografía líquida de alta resolución. La instrumentación requerida para cromatografía de gases también es mucho más sencilla y económica que la empleada en HPLC. Sin embargo, la cromatografía de gases presenta limitaciones, pues no es aplicable a compuestos poco volátiles, ni a compuestos termolábiles. En estos casos la técnica adecuada suele ser la cromatografía líquida de alta resolución.

La cromatografía de gases se puede aplicar al análisis medioambiental (análisis de contaminantes orgánicos en agua corriente o residual, análisis de pesticidas y herbicidas, análisis de hidrocarburos aromáticos polinucleares, etc.), a la química industrial (análisis de aminas, hidrocarburos, disolventes, etc.), a la industria alimentaria (análisis de saborizantes y otros aditivos, vinos, contaminantes en comida envasada, etc.), al análisis clínico (análisis de drogas y fármacos, de contaminantes o alcohol en sangre, etc.), al análisis de fragancias, de derivados del petróleo, etc.

Además de las aplicaciones típicamente analíticas, la cromatografía de gases puede utilizarse a escala preparativa para la obtención de compuestos de elevada pureza, así como también resulta útil para la obtención de datos fisicoquímicos relativos a propiedades superficiales, cinética y termodinámica de procesos de adsorción y separación, desarrollo de catalizadores, etc.

La cromatografía de gases se emplea mucho también como criterio de pureza de compuestos orgánicos. Los contaminantes aparecen como picos adicionales. Las áreas bajo los picos dan una estimación aproximada del grado de contaminación.

PARA SABER MÁS

Cromatografía de gases integral

La cromatografía de gases integral (GCxGC) es una técnica empleada para el análisis de muestras complejas, como petróleo, contaminantes ambientales, fragancias, sabores, tabaco, etc., que no se pueden analizar por cromatografía de gases convencional.

Implica el uso de dos o más columnas diferentes en serie. Cuando un pico sale de la primera columna, se corta en trozos pequeños y se inyecta en la segunda columna. Esto se consigue enfriando rápidamente el extremo de la primera columna, normalmente usando nitrógeno líquido o dióxido de carbono muy frío, y a continuación calentando rápidamente.

Para el análisis cualitativo, como ya se dijo en el capítulo 13, los tiempos de retención aportan una información cualitativa limitada. Además, en cromatografía de gases, dependen altamente de la temperatura, la velocidad de flujo y del volumen de la fase líquida. Por ello se utiliza un parámetro más adecuado que es el índice de retención de Kovats, que es independiente de esos factores, y por tanto, muy reproducible.

Por definición, el índice de retención, *I*, para un alcano normal (de cadena lineal) es igual a 100 veces el número de carbonos que tenga. Por ejemplo, el índice de retención del propano es 300. Para determinar el índice de retención de otros compuestos, se introducen en el cromatógrafo con una mezcla patrón de hidrocarburos saturados que se utiliza como referencia. Se mide el tiempo de retención corregido de los alcanos que eluyen inmediatamente antes y después que el compuesto problema. El valor exacto del índice de retención viene dado por la ecuación:

$$I = 100 \cdot x + 100 \cdot \frac{log T'_R - log T'^{x}_R}{log T'^{x+1}_R - log T'^{x}_R}$$

donde:

- T'_R es el tiempo de retención corregido del compuesto desconocido.
- T'^{x+1}_R es el tiempo de retención corregido del alcano eluido después del compuesto desconocido.
- T'^{x}_R es el tiempo de retención corregido del alcano eluido antes del compuesto desconocido.
- x es el número de carbonos del alcano eluido antes del compuesto desconocido.

Igualmente puede expresarse el índice de retención en función de los volúmenes en lugar de de los tiempos de retención.

Al ser un parámetro bastante independiente de las variables experimentales, los valores obtenidos del índice de retención de Kovats con dos cromatógrafos distintos son comparables. Por ello, existen informatizadas bases de datos de índices de retención que facilitan la identificación de compuestos.

EJEMPLO 1

Se determinaron los siguientes tiempos de retención corregidos tras realizar una separación por cromatografía de gases de una mezcla de hidrocarburos.

Propano	*3,24 minutos*
Isobutano	*6,72 minutos*
Butano	*7,18 minutos*

Determinar el índice de retención para cada uno de ellos.

Por definición para un alcano normal el índice de Kovats es 100 veces su número de carbonos, por lo que:

$I_{propano} = 3 \cdot 100 = 300$

$I_{butano} = 4 \cdot 100 = 400$

Por último, para calcular el índice de Kovats del isobutano:

$$I = 100 \cdot x + 100 \cdot \frac{log T'_R - log T'^{x}_R}{log T'^{x+1}_R - log T'^{x}_R} = 3 + 100 \cdot \frac{log 6,72 - log 3,24}{log 7,18 - log 3,24} = 391,7$$

15.4. Metodología

En cromatografía de gases, aparte de la elección de la columna que se va a utilizar, existen muy pocos parámetros experimentales sobre los que se pueda influir a la hora de realizar la separación, y, normalmente, su optimización es sencilla.

A) Elección de la columna y de la fase estacionaria

La elección adecuada de la columna y de la fase estacionaria es una etapa crítica para conseguir una separación exitosa. Existen directrices generales para realizar la elección, aunque normalmente es un trabajo empírico. Hay que considerar en la elección la cantidad de muestra que admiten así como los valores del flujo del gas portador. Se pueden buscar en las metodologías existentes, desarrolladas para compuestos de estructura similar a los que se trata de separar, y utilizar estas condiciones como punto de partida.

En principio se utilizan columnas capilares, para las que existe una variedad limitada de fases estacionarias, pero que cubren todo el rango de polaridades. Si por cualquier motivo no son adecuadas (necesidad de inyectar cantidades elevadas de muestra, por ejemplo), se recurre a las columnas empaquetadas. En este caso existen muchas fases estacionarias entre las que elegir.

B) Elección de la fase móvil y del flujo de la misma

Como ya se ha comentado, la fase móvil es básicamente inerte en la separación, por lo que la elección de uno u otro dependerá en cada caso de las necesidades del equipo, especialmente del detector.

Tras elegir el caudal, se debe comprobar con algún medidor apropiado.

C) Ajuste de temperaturas

Debe seleccionarse tanto la temperatura de la columna (del horno donde se aloja) como del sistema inyector y del detector.

En la columna, para muestras cuyos componentes tienen puntos de ebullición parecidos, la temperatura óptima es normalmente algo superior al punto de ebullición medio de los componentes de la muestra. Para determinarla se pueden realizar dos o tres inyecciones de prueba.

Con puntos de ebullición muy diferentes se emplea una programación de temperatura, que aumenta según avanza la separación. El incremento de temperatura reduce los tiempos de retención. Resulta conveniente realizar una prueba previa con una velocidad de calentamiento relativamente elevada y cubriendo un rango de temperaturas muy amplio, con el fin de estimar la temperatura a la que eluye cada componente, y la resolución que presentan los picos. A la vista de los resultados, se puede precisar el intervalo de temperatura que se ha de utilizar, así como la velocidad de calentamiento.

D) Tratamiento e inyección de la muestra

La muestra se trata convenientemente, asegurando que ningún compuesto no volátil entra en la columna. Se inyecta con el sistema elegido, procurando tardar el menor tiempo posible, y la muestra es arrastrada a la columna.

E) Al acabar el análisis

Debe enfriarse el sistema antes de comenzar otro análisis cuando las temperaturas de trabajo van a ser menores a las usadas.

F) Seguridad

En la técnica de cromatografía de gases se hace uso de gases comprimidos, por lo que el tema de la seguridad es importante, para evitar cualquier riesgo. Si se trabaja con cilindros, todo el almacenamiento y manipulación debe hacerse con estricta conformidad con las regulaciones y códigos de seguridad existentes, como se comentó en el capítulo 9.

G) Mantenimiento

El mantenimiento de un cromatógrafo de gases es tarea compartida entre el servicio técnico de la empresa fabricante y los usuarios del equipo. Resulta conveniente elaborar un programa de mantenimiento para todas aquellas partes del equipo más susceptibles de deterioro.

1. Inyectores. Periódicamente hay que sustituir los diafragmas y limpiar las superficies internas. Además, diariamente se ha de comprobar que no existan fugas en los diafragmas. Normalmente los diafragmas suelen servir para 25-30 inyecciones, siendo necesario sustituirlos después.
2. Columnas. Diariamente se comprobará si las conexiones tienen pérdidas o no. Si se detectan fugas, apretar las conexiones. Comprobar visualmente que la columna está en buenas condiciones.

   De forma periódica habrá que comprobar la resolución de las columnas utilizando patrones de calibración.
3. Horno. Comprobar el correcto funcionamiento del sistema de circulación de aire y ventilación. Con un termopar o una termorresistencia se puede comprobar la temperatura de trabajo.
4. Suministros de gas. Debe comprobarse periódicamente la presión y el flujo del gas, asegurando su correspondencia con las especificaciones. Un cambio puede indicar la presencia de fugas, que deberán localizarse y repararse. Las fugas pueden detectarse con líquidos detectores de fuga, o con detectores electrónicos.

Resumen

En la cromatografía de gases la fase móvil es un gas inerte, y la fase estacionaria casi siempre es líquida (cromatografía gas-líquido). El reparto de los componentes de la muestra se realiza en función de la distinta polaridad y volatilidad que presenten. La fase estacionaria también puede ser sólida, pero esta modalidad tiene más limitaciones, y por tanto muchas menos aplicaciones.

Los componentes de un cromatógrafo de gases son la fuente de gas, el sistema inyector, la columna, el horno y el detector y registro de datos. La parte más crítica es la columna, que suele ser capilar, aunque a veces se utilizan columnas empaquetadas. Se puede trabajar con las mismas a temperatura constante, o con un gradiente de temperaturas.

La cromatografía de gases es una técnica con alta resolución, sensibilidad y selectividad. Con respecto a la cromatografía líquida de alta resolución, tiene la ventaja de disponer de detectores más universales, y muchas veces los métodos son más simples, rápidos y económicos, pero solo es aplicable a compuestos volátiles y termoestables.

Práctica n.º 19

Determinación de ácido acético en vinos por cromatografía de gases, siguiendo el método del patrón interno

Objetivos

- Aprender el manejo correcto de un cromatógrafo de gases.
- Determinar la concentración de ácido acético por cromatografía de gases.
- Saber interpretar los resultados analíticos.

Procedimiento

1. Preparación del patrón interno. Se prepara una disolución pesando 1 g de ácido propiónico puro, se disuelve y se lleva a 100 mL con agua destilada o desionizada. A continuación se toman 5,00 mL de la disolución anterior, se adicionan 2 mL de ácido fosfórico al 70% y se lleva a un volumen final de 2 L.
2. Preparación de la muestra. Se toman 0,15 mL del vino que se va a analizar y se diluyen con la disolución del patrón interno hasta 2 mL. Se puede realizar en un aparato diluidor.
3. Seleccionar las condiciones del análisis y los parámetros del cromatógrafo:
   - Columna. Rellena de Carbowax 20M y ácido fosfórico (fase estacionaria mixta).
   - Gas portador: helio.
   - Detector de ionización de llama.
   - Temperatura del inyector: 175 ºC.
   - Temperatura de la columna: 90 ºC.
   - Temperatura del detector: 200 ºC.

[.../...]

Procedimiento	• Flujo del gas portador: 32 mL/min. • Flujo de hidrógeno y aire para el detector: los necesarios, para una llama correcta (consultar el manual del equipo). 4. De la dilución de la muestra, tomar con la microjeringa 0,5 µL e inyectar en el cromatógrafo. 5. Para la cuantificación del analito, preparar un patrón de ácido acético de 0,5 g/L, utilizando alcohol etílico al 10% vol. como diluyente, y proceder igual que con la muestra.
Notas	1. Guardar en todo momento las correspondientes medidas de seguridad, leyendo perfectamente todas las indicaciones que se detallen en las instrucciones del aparato. 2. Dada la compleja composición del vino, su inyección directa en el cromatógrafo podría dar problemas de deterioro de la columna. Este problema se minimiza con el procedimiento seguido (dilución de la muestra y pequeño volumen de inyección). 3. El tubo del bloque de inyección es conveniente cambiarlo cada 70 inyecciones aproximadamente. 4. El tiempo de análisis es de unos 6 minutos, pudiéndose inyectar de nuevo otra muestra según acaba el análisis.



Ejercicios propuestos

1. Accede al siguiente enlace: https://tv.upc.edu/contenidos/cromatografia-de-gases-espectrometria-de-masas, y visiona el vídeo sobre cromatografía de gases.
2. Calcula los índices de retención para los siguientes compuestos, cuyos tiempos de retención corregidos fueron:

a)	n-pentano	4,50
b)	n-hexano	8,01
c)	n-heptano	14,48
d)	metiletilcetona	8,80
e)	ciclohexano	6,94

3. Realiza un cuadro con las ventajas e inconvenientes de las columnas cromatográficas que se usan en cromatografía de gases. Completa la información aportada en el capítulo con la consulta de las columnas ofertadas por diversas casas comerciales.

ACTIVIDADES DE AUTOEVALUACIÓN

1. Indica la respuesta correcta sobre las columnas capilares:
   - ☐ *a)* Las columnas capilares necesitan muestras mayores que las columnas empaquetadas.
   - ☐ *b)* Las columnas capilares no llevan fase estacionaria.
   - ☐ *c)* Tienen un diámetro inferior a 1 mm.

2. En general, el orden creciente en cuanto a eficacia de las columnas usadas en cromatografía de gases es:
   - ☐ *a)* Empaquetadas/SCOT/WCOT.
   - ☐ *b)* SCOT/WCOT/empaquetadas.
   - ☐ *c)* SCOT/empaquetadas/WCOT.

3. En la cromatografía de gases:
   - ☐ *a)* Las sustancias que se vayan a separar no deben ser volátiles a la temperatura de trabajo.
   - ☐ *b)* Las sustancias polares se separan mejor en fases estacionarias polares.
   - ☐ *c)* Las sustancias gaseosas no pueden analizarse.

4. La programación de temperatura en cromatografía de gases se emplea normalmente cuando:
   - ☐ *a)* Los componentes que se van a separar tienen un amplio margen de temperaturas de ebullición.
   - ☐ *b)* Los componentes que se van a separar tienen temperaturas de ebullición muy próximas.
   - ☐ *c)* Los componentes que se van a separar no son volátiles.

5. En el detector de captura electrónica utilizado en cromatografía de gases, el gas portador suele ser:
   - ☐ *a)* CO_2.
   - ☐ *b)* Nitrógeno.
   - ☐ *c)* O_2.

6. Para realizar un análisis por cromatografía de gases la etapa más crítica es:
   - ☐ *a)* La elección del detector.
   - ☐ *b)* La elección de la fase móvil.
   - ☐ *c)* La elección de la columna.

SOLUCIONES:

1. a b **c**	3. a **b** c	5. a **b** c
2. **a** b c	4. **a** b c	6. a b **c**

Bibliografía

Cuadros, L., Gámiz, L., Carraco, A., Ruiz, C. (2013). *Glosario de términos analíticos* (1.ª edición digital; http://www.seqa.es/grupos/grupos-graseqa/glosario-de-términos-analíticos). Ed. GRASEQA.

Faraldos, M., Goberna, C. (eds.) (2011). *Técnicas de análisis y caracterización de materiales*. CSIC.

Skoog, D. A., Holler, F. J., Crouch, S. R. (2008). *Principios de Análisis Instrumental* (6.ª edición). Ed. Cengage Learning.

Hernández Pérez, J. M. (2005). "Cromatografía líquida de alta eficacia". *Educación Continuada en el Laboratorio Clínico, 8*, 49-62.

Guiteras, J. Rubio, R., Fonrodona, G. (2003). *Curso experimental de Química analítica*. Ed. Síntesis.

Harris, D. C. (2003). *Análisis Químico Cuantitativo* (3.ª edición). Ed. Reverté.

Compañó Beltrán, R. y Ríos Castro, A. (2002). *Garantía de calidad en los laboratorios analíticos*. Ed. Síntesis.

Harvey, D. (2002). *Química Analítica Moderna*. Ed. McGraw-Hill.

Ramis, G., García, M.C. (2001). *Quimiometría*. Ed. Síntesis.

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J. y Crouch, S. R. (2001). *Química Analítica* (7.ª edición). Ed. McGraw-Hill.

Valcárcel Cases, M. (1999). *Principios de Química Analítica*. Ed. Springer-Verlag.

Bermejo Martínez, F. (1991). *Química Analítica General, Cuantitativa e Instrumental*. (Vol. 2). (6.ª edición). Ed. Paraninfo.

García Barceló, J. (1990). *Técnicas analíticas para vinos.* Ed. GAB Sistemática Analítica.

Valcárcel Cases, M. y Gómez Hens, A. (1988). *Técnicas analíticas de separación*. Ed. Reverté.

Análisis instrumental



Análisis y control de calidad en laboratorio

La química analítica está presente en áreas tan diversas como el diagnóstico y tratamiento de enfermedades y el diseño de nuevos medicamentos; el estudio de procesos biotecnológicos; el control de la contaminación ambiental; el estudio y datación de objetos de interés artístico o arqueológico, o la investigación y desarrollo de nuevos materiales que pueden ser de aplicación en sectores tan dispares como la industria aeroespacial, el deporte o la producción de envases. Además, se trata de una herramienta indispensable en el control de la calidad en todos los sectores industriales (producción de alimentos, automoción, generación de energía, industria textil, etc.). Todo ello justifica sobradamente la importancia actual de la química analítica, que desde hace varias décadas se ha desarrollado sustancialmente, sobre todo en el caso de las técnicas instrumentales de análisis.

Este libro responde a la necesidad de un texto centrado en las técnicas instrumentales de análisis químico adaptado a los actuales planes de estudio de la formación profesional de grado superior.

En todos los capítulos se incorporan diversos recursos didácticos:

Objetivos • Mapa conceptual • Glosario
Recuadros didácticos ("Para saber más", "Ejemplo")
Cuadros y figuras • Resumen
Actividades de autoevaluación (tipo test)

Así mismo, a lo largo de la obra se recogen diversos ejercicios propuestos y prácticas.

ISBN: 978-84-9077-033-7
32403
9 788490 770337

EDITORIAL SINTESIS